

A1

2

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-327878

(43)Date of publication of application : 15.12.1998

(51)Int.Cl.

C12N 15/09  
 A61K 38/00  
 A61K 38/00  
 A61K 38/00  
 A61K 38/00  
 A61K 39/395  
 A61K 48/00  
 C07K 14/705  
 C07K 16/28  
 C12N 5/10  
 C12P 21/02  
 C12P 21/08

(21)Application number : 10-065256

(71)Applicant : SMITHKLINE BEECHAM CORP

(22)Date of filing : 16.03.1998

(72)Inventor : DEEN KEITH CHARLES  
 YOUNG PETER RONALD

(30)Priority

Priority number : 97 41230

Priority date : 14.03.1997

Priority country : US

97 853684

09.05.1997

97 916625

22.08.1997

US

US

## (54) RECEPTOR TR6 RELATED TO TUMOR NECROSIS FACTOR

(57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To obtain a new polynucleotide having a nucleotide sequence having a high identity to a nucleotide sequence encoding a receptor TR6 polypeptide related to a tumor necrosis factor having a specific amino acid sequence and useful for producing the substance used for treating autoimmune diseases, AIDS, arterioscleroses, etc.

**SOLUTION:** This new isolated polynucleotide has a nucleotide sequence having at least a 80% identity over its whole length to a nucleotide sequence encoding a tumor necrosis factor-related receptor TR6 polypeptide having an amino acid of the formula, or a nucleotide sequence complementary to the nucleotide sequence, and the TR6 polypeptide is useful for preventing, improving or correcting chronic or acute inflammation, a arthritis, septicemia, AIDS, cancers, atherosclerosis, Alzheimer's disease, etc. The polynucleotide is obtained by screening a cDNA originated from a mRNA in a cell such as a human thymus gland interstitial cell by an

```

Met Glu Glu Arg Gly Glu Asp Ala Pro Ala Ala Ser Gly Ala Arg Lys
 1      5      10      15
Arg His Gly Pro Gly Leu Arg Glu Ala Ala Gly Ala Arg Pro Gly Pro
 20      25      30
Arg Val Phe Lys Thr Leu Val Leu Val Val Ala Ala Val Leu Leu Leu
 35      40      45
      |
Ser Val His Thr Leu Leu Asp Ala Leu Glu Thr Leu Gly Glu Arg Leu
370      375      380
Ala Lys Glu Lys Ile Glu Asp His Leu Leu Ser Ser Gly Lys Phe Met
385      390      395      400
Tyr Leu Glu Gly Asp Ala Asp Ser Ala Met Ser Glu
405      410

```

expression sequence tag analysis method.

---

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (J P)

## (12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平10-327878

(43)公開日 平成10年(1998)12月15日

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	F I	
C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 N 15/00	Z N A A
A 6 1 K 38/00	A B B	A 6 1 K 39/395	A B E D
	A B J	48/00	A E D
	A D U	C 0 7 K 14/705	
	A D X	16/28	
審査請求 未請求 請求項の数20 O L (全 25 頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願平10-65256	(71)出願人	591002957 スミスクライン・ビーチャム・コーポレイ ション SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION アメリカ合衆国ペンシルベニア州19406- 0939、キング・オブ・ブルシア、スウェー ドランド・ロード709番
(22)出願日	平成10年(1998)3月16日	(72)発明者	キース・チャールズ・ディーン アメリカ合衆国19343ペンシルベニア州グ レンムーア、キャスリーン・ウェイ210番
(31)優先権主張番号	60/041230	(74)代理人	弁理士 青山 葆 (外1名)
(32)優先日	1997年3月14日		
(33)優先権主張国	米国 (U S)		
(31)優先権主張番号	08/853684		
(32)優先日	1997年5月9日		
(33)優先権主張国	米国 (U S)		
(31)優先権主張番号	08/916625		
(32)優先日	1997年8月22日		
(33)優先権主張国	米国 (U S)		
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 腫瘍壊死因子関連のレセプター、T R 6

## (57)【要約】

【課題】 慢性および急性炎症、関節炎、敗血症、自己免疫疾患、移植片拒絶反応、移植片対宿主疾患、感染、卒中、虚血症、成人呼吸窮迫症候群、再狭窄、脳損傷、A I D S、骨疾患、癌、アテローム性動脈硬化症およびアルツハイマー病を含め、機能不全または疾患の予防、改善または矯正において役割を果たしうる、システインプロテアーゼのメンバーを同定および特徴付ける必要がある。

【解決手段】 本発明は、配列番号2のT R 6のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列とその全長にわたって少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチド配列、またはそのヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を有してなる単離されたポリヌクレオチドを提供するものである。

**【特許請求の範囲】**

【請求項 1】 配列番号 2 の T R 6 のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列とその全長にわたって少なくとも 80% の同一性を有するヌクレオチド配列、またはそのヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を有してなる単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 2】 DNA または RNA である請求項 1 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 3】 ヌクレオチド配列が配列番号 1 に含まれるヌクレオチド配列と少なくとも 80% 同一である請求項 1 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 4】 ヌクレオチド配列が配列番号 1 に含まれる T R 6 のポリペプチドをコードする配列を有してなる請求項 3 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 5】 配列番号 1 のポリヌクレオチドである請求項 3 記載のポリヌクレオチド。

【請求項 6】 発現系を有してなる DNA または RNA 分子であって、発現系が適合可能な宿主細胞中にある場合に、その発現系が配列番号 2 のポリペプチドと少なくとも 80% の同一性を有するアミノ酸配列を有してなる T R 6 のポリペプチドを産生することができる DNA または RNA 分子。

【請求項 7】 請求項 6 の発現系を有してなる宿主細胞。

【請求項 8】 請求項 7 の宿主を、そのポリペプチドを産生するのに十分な条件下で培養し、そのポリペプチドを培養物から回収することからなる T R 6 のポリペプチドの産生法。

【請求項 9】 T R 6 のポリペプチドを産生する細胞の産生法であって、宿主細胞が、適当な培養条件下、T R 6 のポリペプチドを産生するように、該宿主細胞を請求項 6 の発現系で形質転換またはトランスフェクションすることからなる方法。

【請求項 10】 配列番号 2 のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも 80% の同一性を有するアミノ酸配列からなる T R 6 のポリペプチド。

【請求項 11】 配列番号 2 のアミノ酸配列からなる請求項 10 記載のポリペプチド。

【請求項 12】 請求項 10 の T R 6 のポリペプチドに免疫特異的な抗体。

【請求項 13】 請求項 10 の T R 6 のポリペプチドの活性または発現を強化する必要性のある対象の治療法であって、

(a) 該対象に治療上有効量の該ポリペプチドに対するアゴニストを投与し；および/または

(b) インビボにて該ポリペプチド活性を生じさせるような形態にて配列番号 2 の T R 6 のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列とその全長にわたって少なくとも 80% の同一性を有するヌクレオチド配列または該ヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列を有してな

る単離されたポリヌクレオチドを対象に付与することからなる方法。

【請求項 14】 請求項 10 の T R 6 のポリペプチドの活性または発現を阻害する必要性のある対象の治療法であって、

(a) 該対象に治療上有効量の該レセプターに対するアンタゴニストを投与し；および/または

(b) 該対象に該レセプターをコードするヌクレオチド配列の発現を阻害する核酸分子を投与し；および/または

(c) 該対象にそのリガンドについて該レセプターと競合する治療上有効量のポリペプチドを投与することからなる方法。

【請求項 15】 対象での請求項 10 の T R 6 のポリペプチドの発現または活性に関連付けられる対象の疾患または疾患の疑いの診断方法であって、

(a) 該対象のゲノム中の T R 6 のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列における変異の有無を測定し；および/または

(b) 該対象から由来の試料中の T R 6 のポリペプチドの発現の存在または量について分析することからなる方法。

【請求項 16】 請求項 10 の T R 6 のポリペプチドについてのアゴニストの同定方法であって、

(a) T R 6 ポリペプチドを産生する細胞を候補化合物と接触させ、

(b) 候補化合物が T R 6 のポリペプチドの活性化により生じるシグナルを発するかどうかを測定することからなる方法。

【請求項 17】 請求項 16 の方法により同定されるアゴニスト。

【請求項 18】 請求項 10 の T R 6 のポリペプチドに対するアンタゴニストの同定方法であって、

(a) T R 6 ポリペプチドを産生する細胞をアゴニストと接触させ、

(b) 該アゴニストにより生じるシグナルが候補化合物の存在で減じるかどうかを測定することからなる方法。

【請求項 19】 請求項 18 の方法により同定されるアンタゴニスト。

【請求項 20】 請求項 9 の方法により産生される組換え宿主細胞または T R 6 ポリペプチドを発現するその膜。

**【発明の詳細な説明】**

【0001】 本願は、1997年3月14日出願の米国仮出願第60/041230号の権利に基づく、1997年5月9日出願の米国特許出願第08/853684号の一部継続出願である。

**【0002】**

【発明の属する技術分野】 本発明は、新たに同定されたポリヌクレオチド、それによりコードされるポリペプチ

ド、このようなポリヌクレオチドおよびポリペプチドの使用およびその生成に関する。さらに詳しくは、本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドは腫瘍壊死因子関連のファミリー（以下、TR6という）に関する。本発明はまた、かかるポリヌクレオチドおよびポリペプチドの作用を阻害または活性化することに関する。

#### 【0003】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】多くの生物学的作用、例えば、特定の刺激および自然の生物学的プロセスに対する応答は、サイトカインなどの因子により制御される。サイトカインの多くは、レセプターを拘束し、細胞内応答を生じさせることにより、レセプターを介して作用する。例えば、腫瘍壊死因子（TNF） $\alpha$ および $\beta$ は、TNFレセプターを介して作用し、感染ならびにショックおよび炎症疾患の誘発に対する防御を含め、多くの生物学的プロセスを調節するサイトカインである。TNF分子は、「TNF-リガンド」超科に属し、そのレセプターまたはカウンターリガンド、すなわち、「TNF-レセプター」超科と一緒に作用する。これまで、9種のTNF-リガンド超科が同定され、10種のTNF-レセプター超科が特徴付けられている。

【0004】そのリガンドには、TNF- $\alpha$ 、リンホトキシン- $\alpha$ （LT- $\alpha$ 、TNF- $\beta$ としても知られている）、LT- $\beta$ （ヘテロトリマーLT- $\alpha$ 2- $\beta$ 複合体中で見つけられた）、FasL、CD40L、CD27L、CD30L、4-1BBL、OX40Lおよび神経生長因子（NGF）が含まれる。TNFレセプターの超科は、p55TNFレセプター、p75TNFレセプター、TNFレセプター関連タンパク質、FAS抗原またはAPO-1、CD40、CD27、CD30、4-1BB、OX40、低親和性p75およびNGF-レセプターを包含する（Meager, A., *Biologicals*, 22: 291-295 (1994)）。TNF-リガンド超科の多くは活性化T細胞により発現され、それはそのTNF-リガンド超科が細胞個体発生および機能の根底にある他の細胞型とのT細胞相互作用に必要であることを意味する（Meager, A., 前掲）。

【0005】これらタンパク質の発現を破壊する変異体を同定かつ形成することで、TNFレセプター科の数種のレセプターの必須機能が十分に洞察された。例えば、FAS抗原およびそのリガンドで自然に起こる変異は、プログラムされた細胞死の機能不全に影響を及ぼすであろう、リンパ増殖性疾患を引き起こす（Watanabe-Fukunaga, R.ら、*Nature* 356: 314 (1992)）。CD40リガンドの変異は、不完全なT細胞依存性B細胞活性化を意味する、血漿中の高レベルのイムノグロブリンMおよび低レベルのイムノグロブリンにより特徴付けられるX-関連の免疫不全症状を引き起こす（Allen, R.C.ら、*Science* 259: 990 (1992)）。

3)）。低親和性神経生長因子レセプターの標的とする変異は、末梢構造の不完全な感覚イノベーションにより特徴付けられる障害をもたらす（Lee, K.F.ら、*Cell* 69: 737 (1992)）。

【0006】TNFおよびLT- $\alpha$ は2種のTNFレセプター（55-および75-kd TNFレセプター）に結合する能力を有する。TNFおよびLT- $\alpha$ により惹起され、そのレセプターを介して作用する多数の生物学的作用は、移植腫瘍の出血性壊死、細胞毒性、エンドトキシンショックにおける役割、炎症、免疫調節、増殖および抗ウイルス性応答、ならびに電離放射線の有害な効果に対する防御を包含する。TNFおよびLT- $\alpha$ は、エンドトキシンショック、脳性マラリア、腫瘍、自己免疫疾患、AIDSおよび移植片-宿主拒絶反応を含め、広範囲の疾患の発生病理に関与している（Beutler, B. および Von Huffel, C., *Science* 264: 667-668 (1994)）。p55レセプターの変異は微生物感染に対する疑いを増加させる。

【0007】その上、TNFR1（P55）およびFasのC-末端付近にある約80個のアミノ酸のドメインは、プログラムされた細胞死についてのシグナルを変換するのに関与している「死ドメイン」である報告されている（Tartagliaら、*Cell* 74: 845 (1993)）。TNF科リガンドおよびTNF科レセプターの作用は、哺乳動物系の生物学的プロセスにおいて、変化し、正常および異常な両方の多数の機能に影響を及ぼす。したがって、正常および疾患状態にて、生物学的活性に影響を及ぼすレセプターおよびリガンドを同定し、かつ特徴付ける必要があるのは明らかである。特にTNFレセプター科の新規なメンバーを単離し、特徴付ける必要がある。

【0008】これは、これらレセプターが治療標的として確立され、かつ立証された歴史を有することを示している。限定するものではないが、慢性および急性炎症、関節炎、敗血症、自己免疫疾患（例えば、炎症性腸疾患、乾癬）、移植片拒絶反応、移植片対宿主疾患、感染、卒中、虚血症、急性呼吸疾患症候群、再狭窄、脳損傷、AIDS、骨疾患、癌（例えば、リンパ増殖性障害）、アテローム性動脈硬化症およびアルツハイマー病を含め、機能不全または疾患の予防、改善または矯正において役割を果たしうる、さらなるレセプターを同定および特徴付ける必要があるのは明らかである。

#### 【0009】

【課題を解決するための手段】一の態様において、本発明はTR6のポリペプチドおよび組換え材料ならびにその製法に関する。本発明の別の態様は、そのようなTR6のポリペプチドおよびポリヌクレオチドを用いる方法に関する。かかる使用は、とりわけ、慢性および急性炎症、関節炎、敗血症、自己免疫疾患（例えば、炎症性腸疾患、乾癬）、移植片拒絶反応、移植片対宿主疾患、感

染、卒中、虚血症、急性呼吸疾患症候群、再狭窄、脳損傷、AIDS、骨疾患、癌（例えば、リンパ増殖性障害）、アテローム性動脈硬化症およびアルツハイマー病の治療を包含する。さらに別の態様において、本発明は、該発明により得られる材料を用いてアゴニストおよびアンタゴニストを同定する方法、およびTR6の平衡異常に付随する症状をその同定した化合物を用いて治療することに関する。本発明のさらに別の態様は不適当なTR6活性またはレベルに伴う疾患を検出するための診断アッセイに関する。

【0010】

【発明の実施の形態】

定義

以下の定義は、本明細書で汎用する用語の理解を容易にするためのものである。「TR6」は、とりわけ、一般に、配列番号2に示されるアミノ酸配列を有するポリペプチドまたはその対立遺伝子変種をいう。「TR6の活性」または「TR6の生物学的活性」とは、類似の活性または改良された活性あるいは望ましくない副作用の減じたこれらの活性を含め、該TR6の代謝的または生理学的機能をいう。該TR6の抗原的および免疫原的活性も含まれる。

【0011】「TR6遺伝子」とは、配列番号1に示されるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドまたはその対立遺伝子変種および／またはそれらの相補物をいう。本明細書で用いる「抗体」は、ポリクローナルおよびモノクローナル抗体、キメラ、一本鎖、およびヒト化抗体、ならびにFabの産物または他の免疫グロブリン発現ライブラリーを含め、Fabフラグメントを包含する。「単離」とは、「人間の手により」天然の状態から変えられたことを意味する。「単離」された組成物または物質が天然に存在する場合、その本来の環境から変えられるかもしくは取り除かれ、またはその両方がなされたことを意味する。例えば、天然の状態で生存動物に存在するポリヌクレオチドまたはポリペプチドは「単離」されていないが、その天然状態で共存する物質から分離されているその同一のポリヌクレオチドまたはポリペプチドは、本明細書に用いる用語である、「単離」がなされている。

【0012】「ポリヌクレオチド」とは、一般に、修飾されていないRNAもしくはDNA、または修飾されたRNAもしくはDNAであってよい、いずれかのポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドをいう。「ポリヌクレオチド」は、一本鎖および二本鎖DNA、一本鎖および二本鎖領域の混合物であるDNA、一本鎖および二本鎖RNA、および一本鎖および二本鎖領域の混合物であるRNA、一本鎖もしくはより典型的には二本鎖、または一本鎖および二本鎖領域の混合物であってもよいDNAおよびRNAを含むハイブリッド分子を包含するが、これに限定されるものではない。加え

て、「ポリヌクレオチド」は、RNAもしくはDNAまたはRNAとDNAの両方を含む三本鎖領域をいう。ポリヌクレオチドなる用語はまた、一つまたはそれ以上の修飾された塩基を含有するDNAまたはRNA、ならびに安定性またはその他の理由で修飾された骨格を有するDNAまたはRNAを包含する。「修飾された」塩基は、例えば、トリチル化された塩基およびイノシンなどの通常でない塩基を包含する。種々の修飾がDNAおよびRNAに対してなされている。よって、「ポリヌクレオチド」は、典型的には天然において見いだされるような化学的、酵素的または代謝的に修飾された形態のポリヌクレオチド、ならびにウイルスおよび細胞に特徴的な化学的形態のDNAおよびRNAを包含する。また、「ポリヌクレオチド」は、しばしばオリゴヌクレオチドと称される比較的短いポリヌクレオチドも包含する。

【0013】「ポリペプチド」は、ペプチド結合または修飾されたペプチド結合、すなわち、ペプチドアイソスターにより互いに結合している2個またはそれ以上のアミノ酸を有してなるペプチドまたはタンパク質をいう。「ポリペプチド」は、通常、ペプチド、オリゴペプチドまたはオリゴマーと称される短鎖、およびタンパク質と称される長鎖の両方をいう。ポリペプチドは遺伝子によりコードされた20種のアミノ酸とは異なるアミノ酸を含有してもよい。「ポリペプチド」は、翻訳後プロセッシングなどの自然の工程により、または当業者に周知の化学修飾技法により修飾されたアミノ酸配列を含有する。このような修飾は基本テキストにて、およびさらに詳細な研究論文にて、ならびに膨大な研究文献において詳しく記載されている。修飾は、ペプチド骨格、アミノ酸側鎖およびアミノまたはカルボキシル末端を含め、ポリペプチドのどこでも起こり得る。同一の型の修飾が所定のポリペプチドの幾つかの部位で、同一または異なる程度で存在し得ることは理解されよう。また、所定のポリペプチドは多くの型の修飾を含んでいてもよい。ポリペプチドはユビキチネーションの結果として分岐していてもよく、分岐しているかまたはしていない、環状であってもよい。環状、分岐および分岐した環状ポリペプチドは翻訳後の天然プロセスにより生じたものであってもよく、または合成法により製造されたものであってもよい。修飾は、アセチル化、アシル化、ADP-リボシル化、アミド化、フラビンの共有結合、ヘム部分の共有結合、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合、脂質または脂質誘導体の共有結合、ホスホチジルイノシトールの共有結合、交差架橋、環化、ジスルフィド結合形成、脱メチル化、交差架橋共有結合形成、システイン形成、ピログルタメート形成、ホルミル化、ガンマーカルボキシル化、糖鎖形成、GPIアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨード化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク質分解的プロセッシング、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セレノイル化、硫酸化、アルギニ

ル化などのトランスファーRNA媒介のタンパク質へのアミノ酸付加、ならびにユビキチネーションを包含する。例えば、PROTEINS - STRUCTURE AND MOLECULAR PROPERTIES、第2版、T. E. Creighton、W. H. Freeman and Company、New York (1993) および POSTTRANSLATIONAL COVALENT MODIFICATION OF PROTEINS、B. C. Johnson 編、Academic Press、New York (1983) の Wold、F.、Posttranslational Protein Modifications: Perspectives and Prospects、1~12頁; Seifterら、“Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors”、Meth. Enzymol. 182: 626-646 (1990) および Rattanら、“Protein Synthesis: Posttranslational Modifications and Aging”、Ann. N. Y. Acad. Sci. 663: 48-62 (1992) を参照のこと。

【0014】本明細書で用いる「変種」なる用語は、各々、対照ポリヌクレオチドまたはポリペプチドとは異なるが、本質的な特性は保持している、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドである。典型的なポリヌクレオチドの変種は、別の対照ポリヌクレオチドとはヌクレオチド配列が異なる。変種のヌクレオチド配列における変化は、対照ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドのアミノ酸配列と変わっていてもよく、変わってなくてもよい。ヌクレオチドの変化は、後記するように、対照配列によりコードされるポリペプチドにおいてアミノ酸置換、付加、欠失、融合および末端切断をもたらす。典型的なポリペプチドの変種は、別の対照ポリペプチドとはアミノ酸配列が異なる。一般に、差異は、対照ポリペプチドおよび変種の配列が、全体的に極めて類似しており、多くの領域で同一であるように限定される。変種および対照ポリペプチドは、1またはそれ以上の置換、付加、欠失のいずれかの組み合わせにより、アミノ酸配列にて異なってもよい。置換または挿入されたアミノ酸残基は、遺伝暗号によりコードされたものであってもなくてもよい。ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの変種は、対立遺伝子変種のような天然物であってもよく、または天然に発生することが知られていない変種であってもよい。ポリヌクレオチドおよびポリペプチドの天然に生じない変種は、突然変異誘発技術により、または直接的合成により製造できる。

【0015】「同一性」は、ヌクレオチド配列またはアミノ酸配列のある程度の同一性をいう。一般に、配列は最高の対合が得られるように配置される。「同一性」自体は、当該分野にて認識されている意義を有しており、公開されている方法を用いて計算することができる。例えば、(COMPUTATIONAL MOLECULAR BIOLOGY、Lesk、A. M. 編、Oxford University Press、New York、1988年; BIO COMPUTING: INFORMATICS AND GENOME PROJECTS、Smith、D. W. 編、Academic Press、New York、1993年; COMPUTER ANALYSIS OF SEQUENCE DATA、PART I、Griffin、A. M. および Griffin、H. G. 編、Humana Press、New Jersey、1994

年; SEQUENCE ANALYSIS IN MOLECULAR BIOLOGY、von Heinje、G.、Academic Press、1987年; および SEQUENCE ANALYSIS PRIMER、Gribskov、M. および Devereux、J. 編、M Stockton Press、New York、1991年) を参照のこと。二つのポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列の間の同一性を測定するのに多数の方法があるが、「同一性」なる用語は当業者に周知である (Carillo、H. および Lipton、D.、SIAM J. Applied Math.、48: 1073 (1988))。二つの配列間の同一性または類似性を測定するために通常用いられる方法は、Guide to Huge Computers、Martin J. Bishop、編、Academic Press、San Diego、1994年、および Carillo、H. および Lipton、D.、SIAM J. Applied Math.、48: 1073 (1988) に開示されている方法を包含するが、これらに限定されるものではない。同一性および類似性を決定するための方法はコンピュータープログラムに集成されている。二つの配列間の同一性および類似性を測定するための好ましいコンピュータープログラム法は、GCGプログラムパッケージ (Devereux、J. ら、Nucleic Acids Research 12 (1): 387 (1984))、BLASTP、BLASTN、FASTA (Atschul、S. F. ら、J. Molec. Biol. 215: 215-403 (1990)) を包含するが、これらに限定されるものではない。

【0016】一例として、配列番号1の対照ヌクレオチド配列に対して少なくとも、例えば95%の「同一性」を有するヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドは、そのポリヌクレオチド配列が配列番号1の対照ヌクレオチド配列のヌクレオチド各100個当たり5個までの点突然変異を有していてもよいことを除き、ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列が対照配列と同一であることを意図とする。言い換えれば、対照ヌクレオチド配列と少なくとも95%同一であるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドを得るためには、その対照配列におけるヌクレオチドの5%までが欠失または別のヌクレオチドで置換されていてもよく、または対照配列における全ヌクレオチドの5%までの数のヌクレオチドが対照配列中に挿入されていてもよい。対照配列のこれらの変異は、対照ヌクレオチド配列の5または3末端位置で、またはそれら末端位置の間のどこで起こってもよく、対照配列中のヌクレオチド間に個々に、または対照配列内の一またはそれ以上の隣接する基において点在してもよい。

【0017】同様に、配列番号2の対照アミノ酸配列に対して少なくとも、例えば95%の同一性を有するアミノ酸配列を有するポリペプチドは、そのポリペプチド配列が配列番号2の対照アミノ酸のアミノ酸各100個当たり5個までのアミノ酸変異を有していてもよいことを除き、そのポリペプチドのアミノ酸配列が、対照配列と同一であることを意図とする。言い換えれば、対照アミノ酸配列に対して少なくとも95%同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドを得るためには、その対照配

列におけるアミノ酸残基の5%までが欠失または別のアミノ酸で置換されていてもよく、または対照配列における全アミノ酸残基の5%までの数のアミノ酸が対照配列中に挿入されていてもよい。対照配列のこれらの変化は対照アミノ酸配列のアミノまたはカルボキシ末端位置で、またはそれら末端位置の間のどこで起こってもよく、対照配列中の残基間に個々に、または対照配列内の一またはそれ以上の隣接する基において点在してもよい。

【0018】本発明のポリペプチド

一の態様において、本発明はTR6のポリペプチドに関する。TR6のポリペプチドは、配列番号2および4のポリペプチド；ならびに配列番号2のアミノ酸配列からなるポリペプチド；および配列番号2のアミノ酸配列とその全長にわたって少なくとも80%の同一性、より好ましくは配列番号2と少なくとも90%の同一性、さらにより好ましくは少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチドを包含する。さらには、少なくとも97-99%の同一性を有するポリペプチドが最も好ましい。TR6のポリペプチドはまた、配列番号2のアミノ酸配列を有するポリペプチドとその全長にわたって少なくとも80%の同一性、より好ましくは配列番号2と少なくとも90%の同一性、さらにより好ましくは少なくとも95%の同一性を有するアミノ酸配列からなるポリペプチドも包含する。さらには、少なくとも97-99%の同一性を有するポリペプチドが最も好ましい。好ましくは、TR6のポリペプチドは少なくとも1つのTR6の生物学的活性を示す。

【0019】TR6のポリペプチドは「成熟」タンパク質の形態であってもよく、あるいは融合タンパク質などの大型のタンパク質の一部であってもよい。分泌またはリーダー配列、プロ配列、複数のヒスチジン残基のごとき精製を促進する配列、または組換え操作の間の安定性のための付加的な配列を含む付加的なアミノ酸配列を含んでいることが有利なことがよくある。

【0020】TR6のポリペプチドのフラグメントも本発明に含まれる。フラグメントは、前記のTR6のポリペプチドのアミノ酸配列のすべてではなく一部に対して全く同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドである。TR6のポリペプチドでは、フラグメントは「自立している」であるか、またはフラグメントが一部分もしくは一領域を形成する大型のポリペプチド内に含まれていてもよく、最も好ましくは単一の連続した領域として含まれる。本発明のポリペプチドフラグメントの典型例は、例えば、TR6のポリペプチドのアミノ酸番号約1~20、21~40、41~60、61~80、81~100および101から末端までからなるフラグメントを包含する。この意味において、「約」とは、片方または両端において、特記された数よりも数個、5個、4個、3個、2個または1個だけ多いかまたは少ない範囲

を含む。

【0021】好ましいフラグメントは、例えば、アミノ末端を含む一連の残基が欠失、またはカルボキシ末端を含む一連の残基が欠失、あるいは一方がアミノ末端でもう一方がカルボキシ末端を含む2つの一連の残基が欠失していること以外は、TR6のポリペプチドのアミノ酸配列を有する切断ポリペプチドを包含する。また、アルファヘリックスおよびアルファヘリックス形成領域、ベータシートおよびベータシート形成領域、ターンおよびターン形成領域、コイルおよびコイル形成領域、親水領域、疎水領域、アルファ両親媒性領域、ベータ両親媒性領域、可変領域、表面形成領域、基質結合領域および高抗原性指標領域を有するフラグメントなどの構造的または機能的属性により特徴付けられるフラグメントも好ましい。他の好ましいフラグメントは生物学的に活性なフラグメントである。生物学的に活性なフラグメントは、類似活性または改良された活性を有する、あるいは望ましくない活性を減じたものを含め、レセプター活性を媒介する、フラグメントである。動物、とりわけヒトにおいて抗原的または免疫原的なフラグメントもまた含まれる。

【0022】好ましくは、これらのポリペプチドフラグメントはすべて、抗原的活性を含め、レセプターの生物学的活性を保持している。最も好ましいフラグメントには、配列番号4のアミノ酸配列を有するものがある。定義した配列の変種およびフラグメントも本発明の一部を形成する。好ましい変種は、同類アミノ酸置換により対照と異なるものであり、すなわち、一の残基が同様の特徴を有する他の残基により置換されているものである。典型的なかかる置換は、Ala、Val、LeuおよびIleの間；SerおよびThrの間；酸性残基AspおよびGluの間；AsnおよびGlnの間；ならびに塩基性残基LysおよびArgの間；あるいは芳香族残基PheおよびTyrの間におけるものである。数個、5ないし10個、1ないし5個、または1ないし2個のアミノ酸がいずれかの組み合わせで置換、欠失または付加されている変種が特に好ましい。

【0023】いずれか適当な方法にて本発明のTR6のポリペプチドを製造することができる。かかるポリペプチドは、単離された天然ポリペプチド、組換え技法で産生されたポリペプチド、合成法により産生されたポリペプチド、またはこれらの方法の組み合わせにより産生されたポリペプチドを包含する。かかるポリペプチドの製造手段は当該分野においてよく知られている。

【0024】本発明のポリヌクレオチド

本発明のもう一つ別の態様はTR6のポリヌクレオチドに関する。TR6のポリヌクレオチドは、TR6のポリペプチドをコードする単離ポリヌクレオチドおよびフラグメント、ならびにそのポリヌクレオチドに密接に関連するポリヌクレオチドに関する。さらに詳細には、本発明のTR6のポリヌクレオチドは、配列番号2のTR6



のポリペプチドをコードする配列番号1に示されるヌクレオチド配列を有してなるポリヌクレオチド、および配列番号1および3の特定の配列を有するポリヌクレオチドを包含する。TR6のポリヌクレオチドは、さらに、配列番号2のTR6のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列とその全長にわたって少なくとも80%の同一性を有するヌクレオチドからなるポリヌクレオチド、および配列番号1とその全長にわたって少なくとも80%同一であるポリヌクレオチドを包含する。この点において、少なくとも90%同一であるポリヌクレオチドが特に好ましく、少なくとも95%同一であるのがさらに好ましい。さらに、少なくとも97%同一であるのがより好ましく、少なくとも98-99%の同一性を有するものがより一層好ましく、少なくとも99%の同一性を有するものが最も好ましい。さらに、増幅させるのにあるいはプローブまたはマーカーとしての用途に用いることのできる条件下で、ハイブリッド形成するのに配列番号1に含まれるヌクレオチド配列と十分な同一性を有するヌクレオチド配列もTR6のポリヌクレオチドに含められる。本発明はまた、かかるTR6のポリヌクレオチドに相補的なポリヌクレオチドを提供する。

【0025】ヒトTR6をコードするcDNAを配列決定した結果から明らかなように、本発明のTR6は、腫瘍壊死因子関連のファミリーの他のタンパク質に構造的に関連付けられる。配列番号1のcDNA配列は、配列番号2の411個のアミノ酸のポリペプチドをコードす

る読み枠(ヌクレオチド番号94から1329まで)を含んでいる。表1(配列番号2)のアミノ酸配列は、DR4、リガンドTRAILについてのレセプターと、411個のアミノ酸残基にて、約58%の同一性(GAP(GCGから)を使用)を有する。(Pan, G., O'Rourke, K., Chinnaiyan, A. M., Gentz, R., Ebner, R., Ni, J. およびDixit, V. M., Science 276, 111-113 (1997))。表1(配列番号1)のヌクレオチド配列は、DR4、リガンドTRAILについてのレセプターと、1335のヌクレオチド残基にて、約70%の同一性(GAP(GCGから)を使用)を有する。TR4は、ヒト・デス・レセプター4(DR4)の死ドメインと64%同一であり(Pan, G., O'Rourke, K., Chinnaiyan, A. M., Gentz, R., Ebner, R., Ni, J. およびDixit, V. M., Science 276, 111-113 (1997))、ヒト・デス・レセプター3(DR3)の死ドメインと35.7%同一であり(A. M. Chinnaiyanら, Science 274 (5289), 990-992 (1996))、ヒトTNFR-1の死ドメインと32.7%同一であり、およびCD95(Fas)の死ドメインと19.6%である(I. Cascino, J. Immunol. 154 (6), 2706-2713 (1995))死ドメイン(配列番号2のアミノ酸290ないし324)を含有する。

【0026】

【表1】

```

1  CTTTGGCGCC ACAAATACA CCGACGATGC CCGATCTACT TTAAGGGCTG
51  AAACCCACGG GCCTGAGAGA CTATAAGAGC GTTCCCTACC GCCATGGAAC
101 AAGGGGGACA GAACGCCCGG GCCGCTTCGG GGGCCCGGAA AAGGCACGGC
151 CCAGGACCCA GGGAGGCGCG GGGAGCCAGG CCTGGGCCCC GGGTCCCCAA
201 GACCCCTGTG CTCGTTGTG CCGCGGTCCT GCTGTTGGTC TCAGCTGAGT
251 CTGCTCTGAT CACCCAACAA GACCTAGCTC CCCAGCAGAG AGCGGCCCCA
301 CAACAAAGA GGTCCAGCCC CTCAGAGGGA TTGTGTCCAc cTGGACACCA
351 TATCTCAGAA GACGGTAGAG ATTGCATCTC CTGCAATAT gGACAGGACT
401 ATAGCACTCA aTGAATGAC CTCCTTTTCT GCTTGGCTG CACCAAGGTG
451 GATTCAGGTG AAGTGGAGCT AAGTCCCTGC ACCACGACCA GAAACACAGT
501 GTGTCAGTGC GAAGAAgGCA CCTTCCGGGA AGAAGATTCT CCTGAGATGT
551 GCCGGAAGTG CCGCACAGGG TGTCCAgAG GGATGGTCAA GGTGGGTGAT
601 TGTACACCTT GGAGTGACAT CGAATGTGTC CACAAAGAAT CAGGCATCAT
651 CATAgGAGTC ACAGTTGCAG CCGTAGTCTT GATTGTGGCT GTGTTTGTG
701 GcaAgTCTTT ACTGTGGAAG AAAGTCCTTC CTTACCTGAA AGGCATCTGC
751 TCAGGTGGTG GTGGGGACCC TGAGCGTGTG GACAGAAGcT CACAACGACc
801 TGGGGCTGAG GACAATGTCC TCAATGAGAT CGTGAGTATC TTGCAGCCCA
851 CCCAGGTCCC TGAGCAGGAA ATGGAAGTCC AGGAGCCAGC AGAGCCAACA
901 GGTGTCAACA TGTTGTCCCC CGGGGAGTCA GAGCATCTGC TGAACCGGCG
951 AGAAGCTGAA AGGTCTCAGA GGAGGAGGCT GCTGGTTCCA GCAAATGAAG
1001 GTGATCCAC TGAGACTCTG AGACAGTGCT TCGATGACTT TGCAGACTTG
1051 GTGCCCTTTG ACTCTGGGA gCCgCTCATG AGGAAGTTGG GCCTCATGGA
1101 CAATgAGATa aaGGTGGCTA AAGCTGAGGC AGCGGGCCAC AGGGACACCT
1151 TGTACACGAT GCTGATAAAG TGGGTCAACA AAACGGGGCG AGATGCCTCT

```

1201 GTCCACACCC TGCTGGATGC CTTGGAGACG CTGGGAGAGA GACTTGCCAA  
 1251 GCAGAAGATT GAGGACCACT TGTGAGCTC TGGAAAGTTC ATGTATCTAG  
  
 1301 AAGGTAATGC AGACTCTGCC ATGTCCTAAG TGTGATTCTC TTCAGGAAGT  
 1351 CAGACCTTCC CTGGTTTACC TTTTCTCGG AAAAAGCCCA ACTGGACTCC  
 1401 AGTCAGTAGG AAAGTGCCAC AATTGTCACA TGACCGGTAC TGAAGAAGAC  
 1451 TCTCCCATCC AACATCACCC AGTGGATGGA ACATCCTGTA ACTTTTCACT  
 1501 GCACTTGGCA TTATTTTAT AAGCTGAATG TGATAATAAG GACACTATGG  
 1551 AAATGTCTGG ATCATTCCGT TTGTGCGTAC TTTGAgATTT GGTTTGGGAT  
 1601 GTCATTGTTT TCACAGCACT TTTTATCCT AATGTAAATG CTTTATTAT  
 1651 TTATTTGGGC TACATTGTAA gATCCATCTA CACAGTCGTT GTCCGACTTC  
 1701 ACTTGATACT ATATGATATG AACCTTTTTT GGGTGGGGGG TGGGGGGCAg  
 1751 TTCCTCTGT CTCCAGGCT GGAGTGCAAT GGTGCAATCT TGGCTACTA  
 1801 TAGCCTTGAC CTCTCAGGCT CAAGCGATTG TCCACCTCA GCCATCCAAA  
 1851 TAGCTGGGAC CACAGGTGTG CACCACCACG CCCGGCTAAT TTTTGTATT  
 1901 TTGTCTAgAT ATAGGGGCTC TCTATGTTGC TCAGGGTGGT CTCgAATTCC  
 1951 TGGAcTCAAG CAGTCTGCCC ACcTCAGAcT CCCAAAGCGG TGAATTAGA  
 2001 GGGGTGAGCC CCCATGcTTG gCCTTAcTT TcTACTTTTA TAATTCTGTA  
 2051 TGTATTATT TTATGAACAT GAAGAACTT TAGTAAATGT ACTTGTTTAC  
 2101 ATAGTTATGT GAATAGATTA GATAAACATA AAAGGAGGAG ACATACAATG  
 2151 GGGGAAGAAG AAGAAGTCCC CTGTAAGATG TCACTGTcTG GGTTCAGCC  
 2201 CTCCCTCAGA TGTACTTTGG CTTCAATGAT TGGCAACTTC TACAGGGGCC  
 2251 AGTCTTTTGA ACTGGACAAC CTTACAAGTA TATGAGTATT ATTTATAGGT  
 2301 AGTTGTTTAC ATATGAGTCG GGACCAAAGA GAACTGGATC CACGTGAAGT  
 2351 CCTGTGTGTG GCTGGTCCCT ACCTGGGCAG TcTCATTTGC ACCCATAGCC  
 2401 CCCATCTATG GACAGGCTGG GACAGAGGCA GATGGGTTAG ATCACACATA  
 2451 ACAATAGGGT CTATGTCATA TCCCAAGTGA ACTTGAGCCC TGTTTGGGCT  
 2501 CAGGAGATAG AAGACAAAAT CTGTCTCCCC ACGTCTGCCA TGGCATCAAG  
 2551 GGGGAAGAGT AGATGGTGCT tGAGAATGGT GTGAAATGGT TGCCATCTCA  
 2601 GGAGTAGATG GCCCGGCTCA CTTCTGGTTA TcGTCAACC TGAGCCCAcTg  
 2651 AGCTGcTTT TAGGGTACAG ATTGCCTACT TGAGGACCTT GGCGCTCTG  
 2701 TAAGCATCTG ACTCATCTCA GAAATGTCAA TTCTTAAACA CTGTGGCAAC  
 2751 AGGACCTAGA ATGGCTGACG CATTAAAGTT TTCTTcTTGT GTCCTGTTCT  
 2801 ATTAtTGTTT. TAAGACCTCA GTAACCATTT CAGCCTCTTT CCAGCAAACC  
 2851 CTTCTCCATA GTATTTCACT CATGGAAGGA TCATTTATGC AGGTAGTCAT  
 2901 TCCAGGAGTT TTTGGTCTTT TCTGTCTCAA GGCATTGTGT GTTTTGTTC  
 2951 GGGACTGGTT TGGGTGGGAC AAAGTTAGAA TTGCCTGAAG AtcAcACATT  
 3001 CAGACTGTtG TGTCTGTGGA GTTTTAGGAG TGGGGGGTGA CCTTTcTGGT  
 3051 CTTtGcAcTT CCATCcTcTC CCAcTTCCAT cTGGCATCCC CACGcGTTGT  
 3101 CCCcTGCAcT TcTGGAAGGC ACAGGGTGCT GCTGCTTCTT GGTCTTTGCC  
 3151 TTTGCTGGGC cTTCTGTGCA GGACGCTCAG CCTCAGGGCT CAGAAGGTGC  
 3201 CAGTCCGGTC CCAGGTCCCT TGTCCCTTCC ACAGAGGCTT TcTAGAAGA  
 3251 TGCATCTAGA GTGTCAGCCT TATCAGTGT TAAGATTTTT CTTTTATTTT  
 3301 TAATTTTTTT GAGACAGAAT CTCACTCTCT CGCCAGGCT GGAGTCAAC  
 3351 GGTACGATCT TGGCTCAGTG CAACCTCCGC CTCCTGGGT CAAGCGATTG  
 3401 TCGTGCTCA GCCTCCGGAG TAGCTGGGAT TGCAGGCACC CGCCACCACG  
 3451 CCTGGCTAAT TTTTGTATTT TTAGTAGAGA CGGGGTTTCA CCATGTTGGT  
 3501 CAGGCTGGTC TCGAACTCCT GACCTCAGGT GATCCACNTT GGCTCCGAA  
 3551 AGTGCTGGGg tatacaaggc GTGAGCCACC AGCCAGGCCA AGATATTNTT  
 3601 NTAAGNNAG CTTCCGGANG ACATGAAATA ANGGGGGGTT TTGTTGTTTA

3651 GTAACATTNG GCTTTGATAT ATCCCCAGGC CAAATNGCAN GNGACACAGG  
 3701 ACAGCCATAG TATAGTGTGT CACTCGTGGT TGGTGCCTT TCATGGTTcT  
 3751 GCCCTGTCAA AGGTCCCTAT TTGAAATGTG TTATAATACA AACAAGGAAG  
 3801 CACATTGTGT ACAAATACT TATGTATTTA TGAATCCATG ACCAAATTAA  
 3851 ATATGAAACC TTATATAAAA AAAAAAAAAA A

ヒトTR6のヌクレオチド配列 (配列番号1)

【0027】

【表2】

Met Glu Gln Arg Gly Gln Asn Ala Pro Ala Ala Ser Gly Ala Arg Lys	16
Arg His Gly Pro Gly Pro Arg Glu Ala Arg Gly Ala Arg Pro Gly Pro	32
Arg Val Pro Lys Thr Leu Val Leu Val Val Ala Ala Val Leu Leu Leu	48
Val Ser Ala Glu Ser Ala Leu Ile Thr Gln Gln Asp Leu Ala Pro Gln	64
Gln Arg Ala Ala Pro Gln Gln Lys Arg Ser Ser Pro Ser Glu Gly Leu	80
Cys Pro Pro Gly His His Ile Ser Glu Asp Gly Arg Asp Cys Ile Ser	96
Cys Lys Tyr Gly Gln Asp Tyr Ser Thr Gln Trp Asn Asp Leu Leu Phe	112
Cys Leu Arg Cys Thr Arg Cys Asp Ser Gly Glu Val Glu Leu Ser Pro	128
Cys Thr Thr Thr Arg Asn Thr Val Cys Gln Cys Glu Glu Gly Thr Phe	144
Arg Glu Glu Asp Ser Pro Glu Met Cys Arg Lys Cys Arg Thr Gly Cys	160
Pro Arg Gly Met Val Lys Val Gly Asp Cys Thr Pro Trp Ser Asp Ile	176
Glu Cys Val His Lys Glu Ser Gly Ile Ile Ile Gly Val Thr Val Ala	192
Ala Val Val Leu Ile Val Ala Val Phe Val Cys Lys Ser Leu Leu Trp	208
Lys Lys Val Leu Pro Tyr Leu Lys Gly Ile Cys Ser Gly Gly Gly Gly	224
Asp Pro Glu Arg Val Asp Arg Ser Ser Gln Arg Pro Gly Ala Glu Asp	240
Asn Val Leu Asn Glu Ile Val Ser Ile Leu Gln Pro Thr Gln Val Pro	256
Glu Gln Glu Met Glu Val Gln Glu Pro Ala Glu Pro Thr Gly Val Asn	272
Met Leu Ser Pro Gly Glu Ser Glu His Leu Leu Glu Pro Ala Glu Ala	288
Glu Arg Ser Gln Arg Arg Arg Leu Leu Val Pro Ala Asn Glu Gly Asp	304
Pro Thr Glu Thr Leu Arg Gln Cys Phe Asp Asp Phe Ala Asp Leu Val	320
Pro Phe Asp Ser Trp Glu Pro Leu Met Arg Lys Leu Gly Leu Met Asp	336
Asn Glu Ile Lys Val Ala Lys Ala Glu Ala Ala Gly His Arg Asp Thr	352

Leu Tyr Thr Met Leu Ile Lys Trp Val Asn Lys Thr Gly Arg Asp Ala 368

Ser Val His Thr Leu Leu Asp Ala Leu Glu Thr Leu Gly Glu Arg Leu 384

Ala Lys Gln Lys Ile Glu Asp His Leu Leu Ser Ser Gly Lys Phe Met 400

Tyr Leu Glu Gly Asn Ala Asp Ser Ala Met Ser End 411

# ヒトTR6のアミノ酸配列 (配列番号2)

【0028】ヒト胸腺間質細胞、単細胞、末梢血管リンパ球、一次樹状細胞および骨髓細胞のヒトの細胞中のmRNAから由来のcDNAライブラリーより標準的クローニングおよびスクリーニングを用い、発現配列タグ(EST)分析(Adams, M. D. ら、Science 252: 1651-1656 (1991); Adams, M. D. ら、Nature 355: 632-634 (1992); Adams, M. D. ら、Nature 377 Supp: 3-174 (1995))を用いて、TR6をコードする本発明の1のポリヌクレオチドを得てもよい。ゲノムDNAライブラリーのごとき天然源から本発明のポリヌクレオチドを得ることもでき、あるいはよく知られ、かつ商業上利用可能な方法を用いて合成することもできる。

【0029】配列番号2のTR6のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列は、表1(配列番号1のヌクレオチド数94から1329)に含まれるポリペプチドをコードする配列と同一であってもよく、または遺伝暗号の重複性(縮重性)の結果として、配列番号2のポリペプチドをもコードする配列であってもよい。

【0030】本発明のポリヌクレオチドをTR6のポリペプチドの組換え生産に用いる場合、ポリヌクレオチドはそれ自体、成熟ポリペプチドまたはそのフラグメントのコーディング配列を含むものであってもよく;読み枠中に、リーダーまたは分泌配列、プレ、プロ、もしくはプレプロタンパク質配列をコードするコーディング配列、または他の融合ペプチド部分などの、他のコーディ

ング配列を伴った、成熟ポリペプチドまたはフラグメントのコーディング配列を含むものであってもよい。例えば、融合ポリペプチドの精製を促進するマーカー配列をコードすることもできる。本発明のこの態様の特に好ましい具体例において、マーカー配列は、pQEベクター(Qiagen, Inc.)で得られ、Gentzら、Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 86:821-824 (1989)に記載されるような、ヘキサ-ヒスチジンペプチドであるか、またはHAタグである。ポリヌクレオチドはまた、非コーディング5'および3'配列、例えば、転写された非翻訳配列、スプライスおよびポリアデニル化シグナル、リボソーム結合部位およびmRNAを安定化する配列などを含有していてもよい。

【0031】さらなる好ましい具体例は、表1(配列番号2)のTR6のポリペプチドのアミノ酸配列を有し、数個、5ないし10個、1ないし5個、1ないし3個、1ないし2個または1個のアミノ酸残基がいずれかの組み合わせで置換、欠失または付加されているTR6の変種をコードするポリヌクレオチドである。本発明の好ましいポリヌクレオチドには、表4(配列番号4)のアミノ酸配列をコードする表3(配列番号3)に含まれるポリヌクレオチドがある。

【0032】

【表3】

```

1  ATGACCTCCT TTTCTGCTTG CGCTGCACCA GGTGTGATTC AGGTGAAGTG
51  GAGCTAAGTC CCTGCACCAC GACCAGAAAC ACAGTGTGTC AGTGCGAAGA
101 AgGCACCTTC CGGGAAGAAG ATTCTCCTGA GATGTGCCGG AAGTGCCGCA
151 CAGGGTGTCC CAgAGGGATG GTCAAGGTCC GTGATTGTAC ACCCTGGAGT
201 GACATCGAAT GTGTCCACAA AGAATCAGGC ATCATCATAg GAGTCACAGT
251 TGCAGCCGTA GTCTTGATTG TGGCTGTGTT TGTTCaAg TCTTTACTGT
301 GGAAGAAAGT CCTTCCTTAC CTGAAAGGCA TCTGCTCAGG TGGTGGTGGG
351 GACCCTGAGC GTGTGGACAG AAGcTCACAA CGACcTGGGG CTGAGGACAA
401 TGTCTCAAT GAGATCGTGA GTATCTTGCA GCCCACCAG GTCCCTGAGC
451 AGGAAATGGA AGTCCAGGAG CCAGCAGAGC CAACAGGTGT CAACATGTTG
501 TCCCCCGGGG AGTCAGAGCA TCTGCTGGAA CCGGCAGAAG CTGAAAGGTC
551 TCAGAGGAGG AGGCTGCTGG TTCCAGCAAA TGAAGGTGAT CCCACTGAGA
601 CTCTGAGACA GTGCTTCGAT GACTTTGCAG ACTTGGTGCC CTTTGACTCC
651 TGGGAgCCgC TCATGAGGAA GTTGGGCCTC ATGGACAATg AGATaaaGGT
701 GGCTAAAGCT GAGGCAGCGG GCCACAGGGA CACCTTGTA CCGATGCTGA
751 TAAAGTGGGT CAACAAAACC GGGCGAGATG CCTCTGTCCA CACCCTGCTG

```

801 GATGCCTTGG AGACGCTGGG AGAGAGACTT GCCAAGCAGA AGATTGAGGA  
 851 CCACTTGTTG AGCTCTGGAA AGTTCATGTA TCTAGAAGGT AATGCAGACT  
 901 CTGCCATGTC CTAAGTGTGA TTCTCTTCAG GAAGTCAGAC CTTCCCTGGT  
 951 TTACCTTTTT TCTGGAAAAA GCCCAACTGG ACTCCAGTCA GTAGGAAAGT  
 1001 GCCACAATTG TCACATGACC GGTACTGGAA GAACTCTCC CATCCAACAT  
 1051 CACCCAGTGG AT

ヒト R T 6 の部分ヌクレオチド配列 (配列番号 3)

【0033】

【表 4】

1 DLLFCLRCTR CDSGEVELSP CTTTRNTVCQ CEEGTFREED SPENCRKCR  
 51 GCPGRMVKVG DCTPWSIDIE VHKEGIIIG VTVAAVVLIV AVFVCKSLLW  
 101 KKVLPYKGI CSGGGGDPER VDRSSORPGA EDNLNEIVS ILQPTQVPEQ  
 151 EMEVQEPAP TGVNMLSPGE SEHLLPEAE ERSQRRLLV PANEGDPTET  
 201 LRQCFDDFAD LVPFDSWEPL MRKLGLMDNE IKVAKAEAG HRDTLYTMLI  
 251 KWNKTGRDA SVHTLLDALE TLGERLAKQK IEDHLLSSGK FMYLEGNADS  
 301 AMS\*

ヒト T R 6 の部分アミノ酸配列 (配列番号 4)

【0034】本発明は、さらには、本明細書において前記した配列とハイブリッド形成するポリヌクレオチドにも関する。この点において、本発明は、特に、本明細書において前記したポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションするポリヌクレオチドに関する。本明細書で用いる用語の「ストリンジェントな条件」とは、配列間に少なくとも 95%、好ましくは少なくとも 97% の同一性がある場合にのみハイブリダイゼーションが起こることを意味する。

【0035】本発明のポリヌクレオチドは、配列番号 1 に含まれるヌクレオチド配列または配列番号 3 の部分ヌクレオチド配列を含め、そのフラグメントに対して同一または十分に同一であり、cDNA およびゲノム DNA 用のハイブリダイゼーションプローブとして用いて T R 6 をコードする全長の cDNA およびゲノムクローンを単離し、T R 6 遺伝子に対して高配列類似性を有する他の遺伝子の cDNA およびゲノムクローンを単離することができる。かかるハイブリダイゼーション法は当業者に知られている。典型的には、これらのヌクレオチド配列は、対照配列と 80% 同一、好ましくは 90% 同一、より好ましくは 95% 同一である。一般に、プローブは少なくとも 15 個のヌクレオチドを含むであろう。好ましくは、かかるプローブは少なくとも 30 個のヌクレオチドを有し、少なくとも 50 個のヌクレオチドを有してもよい。特に好ましいプローブは 30 ないし 50 個のヌクレオチドの範囲にある。

【0036】一の実例において、T R 6 のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを得るには、適当なライブラリーをストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で配列番号 1 を有する標識したプローブまたはそのフラグメント (配列番号 3 のヌクレオチド配列を含む) でスクリーニングし、該ポリヌクレオチド配列を含む全長の cDNA およびゲノムクローンを単離する工程からなる。そのようなハイブリダイゼーション法は

当業者に周知である。かくして、さらに別の態様にて、本発明の T R 6 のポリヌクレオチドは、さらに、ストリンジェントな条件下で配列番号 1 を有するヌクレオチド配列または配列番号 3 のヌクレオチド配列を含め、そのフラグメントとハイブリダイゼーションするヌクレオチド配列を有するヌクレオチド配列を包含する。前記したハイブリダイゼーション条件下で得られるヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列を有するポリペプチドも T R 6 ポリペプチドに含まれる。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、前記されているとおりであるか、あるいはまた 50% ホルムアミド、5 x SSC (150 mM NaCl、15 mM クエン酸ナトリウム)、50 mM リン酸ナトリウム (pH 7.6)、5 x Denhardt's 溶液、10% 硫酸デキストランおよび 20 マイクログラム/ml の変性切断サケ精子 DNA を有してなる溶液中で一夜 42°C でインキュベートし、つづいてそのフィルターを約 65°C で 0.1 x SSC にて洗浄する条件である。研究試薬ならびに動物およびヒトの疾患の治療および診断を見いだすための材料として本発明のポリヌクレオチドおよびポリペプチドを用いてもよい。

【0037】ベクター、宿主細胞、発現

本発明はまた、本発明のポリヌクレオチド (複数でも可) を含むベクター、本発明のベクターで遺伝子操作する宿主細胞および組換え技法による本発明のポリペプチドの製造にも関する。無細胞翻訳系を用い、本発明の DNA 構築物から由来の RNA を用いてかかるタンパク質を製造できる。

【0038】組換え体を製造するために、宿主細胞を遺伝子操作して、本発明のポリヌクレオチドについての発現系もしくはそれらの一部を組み込むことができる。ポリヌクレオチドの宿主細胞への導入は、Davis ら、BASIC METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY (1986) ; Sambrook ら、MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL、第 2 版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring H

arbor, N. Y. (1989) のような、多くの標準的な実験マニュアルに記載される方法により行うことができ、例えばリン酸カルシウムトランスフェクション、DEAE-デキストラン媒介トランスフェクション、トランスベクション、マイクロインジェクション、陽イオン脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、トランスダクション、スクレープ負荷、バリスティック導入または感染等がある。

【0039】適当な宿主の代表的なものとして、細菌細胞、例えば連鎖球菌属 (streptococci)、ブドウ球菌属 (staphylococci)、大腸菌 (*E. coli*)、ストレプトミセス (*Streptomyces*) および枯草菌 (*Bacillus subtilis*) 細胞；真菌細胞、例えば酵母細胞およびアスペルギルス属 (*Aspergillus*) 細胞；昆虫細胞、例えばドロソフィラ S2 (*Drosophila S2*) およびスポドプテラ Sf9 (*Spodoptera Sf9*) 細胞；動物細胞、例えば CHO、COS、HeLa、C127、3T3、BHK、HEK293 およびボウズ (Bows) 黒色腫細胞；ならびに植物細胞が挙げられる。

【0040】多種の発現系を用いることができる。このような系として、とりわけ、染色体、エピソームおよびウイルス由来系、例えば細菌プラスミドから、バクテリオファージから、トランスポゾンから、酵母エピソームから、挿入エレメントから、酵母染色体エレメントから、バキュロウイルス、パポウイルスなどの、例えば SV40、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、鶏痘ウイルス、仮性狂犬病ウイルスおよびレトロウイルス等のウイルスから由来のベクター、ならびにその組み合わせから由来のベクター、例えばコスミドおよびファージミドなどのプラスミドおよびバクテリオファージ遺伝因子から由来のベクターが挙げられる。発現系は発現を制御および引き起こす調節領域を含有していてもよい。一般に、ポリヌクレオチドを保持、伸長または発現させ、宿主にてポリペプチドを産生するのに適した系またはベクターを使用できる。種々の周知かつ慣用的な技法、例えば、Sambrook ら、MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL (前掲) に記載されている技法により、適当なヌクレオチド配列を発現系に挿入できる。

【0041】翻訳タンパク質を、小胞体内腔、周辺腔または細胞外環境へ分泌させるために、適当な分泌シグナルを所望のポリペプチドに組み込むことができる。これらのシグナルはポリペプチドに固有のシグナルであってもよく、あるいは異種性のシグナルであってもよい。TR6 のポリペプチドをスクリーニングアッセイにて用いるために発現させる場合、一般に、そのポリペプチドを細胞表面で生成させることが好ましい。この場合、スクリーニングアッセイに使用する前に細胞を集めてもよい。TR6 のポリペプチドが培地中に分泌されるならば、培地を回収してポリペプチドを回収し精製することができる。細胞内に生成されるならば、まず細胞を溶解

し、次いで、ポリペプチドを回収しなければならない。

【0042】TR6 のポリペプチドは、硫酸アンモニウムまたはエタノール沈殿、酸抽出、陰イオンまたは陽イオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水相互作用クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを含め、周知の方法により、組換え細胞培養物から回収および精製できる。高性能液体クロマトグラフィーを精製に用いるのが最も好ましい。ポリペプチドが単離および/または精製中に変性する場合、タンパク質を再生するための周知方法を用い、再び活性な立体配座とすることができる。

#### 【0043】診断アッセイ

本発明はまた診断薬として用いるための TR6 のポリヌクレオチドの使用にも関する。機能不全に関与する TR6 遺伝子の変異形の検出は、TR6 の過少発現、過剰発現または発現の変化よりもたらされる疾患の診断または疾患の疑いを特定することのできる診断手段を提供する。TR6 遺伝子に変異のある個体は、種々の方法により DNA レベルで検出できる。

【0044】診断に供する核酸は、対象の細胞、例えば、血液、尿、唾液、組織生検または剖検材料より得ることができる。ゲノム DNA は、検出するのに直接使用してもよく、または分析の前に PCR もしくはその他の増幅法を用いることにより酵素的に増幅させてもよい。RNA または cDNA もまた同じ方法で用いることができる。正常な遺伝子型との比較における増幅産物の大きさの変化により、欠失および挿入を検出できる。点突然変異は、増幅 DNA を標識化 TR6 のヌクレオチド配列とハイブリッド形成させることにより同定できる。完全に対合した配列は RNase 消化により、または融解温度の違いにより、誤対合二重らせんから区別できる。DNA 配列の違いはまた、変性物質と一緒にまたはなしで、ゲル中の DNA フラグメントの電気泳動の移動度の変化により、または直接的 DNA 配列決定法により検出できる。例えば Myers ら、Science 230: 1242 (1985) を参照のこと。特異的な位置での配列の変化はまた、ヌクレアーゼ保護アッセイ、例えば RNase および S1 保護または化学的切断法によっても明らかにすることができる。Cotton ら、Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 85: 4397-4401 (1985) を参照のこと。もう 1 つの具体例において、TR6 のヌクレオチド配列またはそのフラグメントからなるオリゴヌクレオチドプローブのアレイ (array) を構築して、例えば遺伝的変異の効果的なスクリーニングを行うことができる。アレイ法はよく知られており、適用範囲が広く、その方法を用いて、遺伝子発現、遺伝的連鎖および遺伝的变化を含め、分子遺伝学における種々の問題と取り組むことができる (例えば、M. Chee ら、Science, Vol 274, pp610-613 (1996) を参照のこと)。

【0045】診断アッセイは、記載した方法によりTR6遺伝子中の変異を検出することによる、慢性および急性炎症、関節炎、敗血症、自己免疫疾患（例えば、炎症性腸疾患、乾癬）、移植片拒絶反応、移植片対宿主疾患、感染、卒中、虚血症、急性呼吸疾患症候群、再狭窄、脳損傷、AIDS、骨疾患、癌（例えば、リンパ増殖性障害）、アテローム性動脈硬化症およびアルツハイマー病の疑いを診断または測定する方法を提供する。

【0046】加えて、慢性および急性炎症、関節炎、敗血症、自己免疫疾患（例えば、炎症性腸疾患、乾癬）、移植片拒絶反応、移植片対宿主疾患、感染、卒中、虚血症、急性呼吸疾患症候群、再狭窄、脳損傷、AIDS、骨疾患、癌（例えば、リンパ増殖性障害）、アテローム性動脈硬化症およびアルツハイマー病は、対象から由来の試料より、異常に上昇または低下したTR6のポリペプチドまたはTR6のmRNAのレベルを測定することの特徴とする方法によって診断することができる。発現の増加または低下は、ポリヌクレオチドの定量法として当該分野で周知の方法、例えば、PCR、RT-PCR、RNase保護、ノーザンブロッティングおよび他のハイブリダイゼーション法を用いてRNAレベルで測定できる。宿主から由来の試料中のTR6のポリペプチドなどのタンパク質のレベルを決定するために用いることができるアッセイ法は、当業者に周知である。このようなアッセイ法には、ラジオイムノアッセイ、競争結合アッセイ、ウェスタンブロット分析およびELISAアッセイが挙げられる。

#### 【0047】染色体アッセイ

本発明のヌクレオチド配列は染色体の同定にも価値がある。該配列は、個々のヒト染色体上の特定の位置を特異的に標的とし、これとハイブリッド形成しうる。本発明に従って、関連する配列を染色体にマッピングする工程は、それらの配列を遺伝子関連疾患と関連づける重要な第1工程である。配列を正確な染色体位置にマッピングしたならば、染色体上の配列の物理的位置を遺伝地図のデータと関連づけることができる。かかるデータは、例えば、V. McKusick, Mendelian Inheritance in Man (Johns Hopkins University Welch Medical Libraryからオンラインで利用できる) にて見られる。ついで、連鎖分析（物理的に隣接する遺伝子の同時遺伝）により、同じ染色体領域にマッピングされた遺伝子と疾患との関係を同定する。罹病個体と未罹病個体との間のcDNAまたはゲノム配列の相違も測定することができる。いくつかまたはすべての罹病個体において変異が観察されるが、正常個体においては観察されない場合、その変異は該疾患の原因である可能性がある。TR6の3' 非翻訳領域は、マッピングされたEST (Genbank ID: D20151) の295bpのヌクレオチド配列と適合する。このESTは、Whitehead Instituteにより、染色体8連鎖基の頂点から染色体8、97.68まで地図形成され

ている。

#### 【0048】抗体

本発明のポリペプチドもしくはそれらのフラグメントまたはそのアナログ、あるいはそれらを発現する細胞を免疫原として用いて、TR6のポリペプチドに対して免疫特異的な抗体を得ることもできる。「免疫特異的」なる語は、抗体が先行技術における他の関連ポリペプチドに対するアフィニティよりも、本発明のポリペプチドに対して実質的により大きなアフィニティを有することを意味する。

【0049】TR6のポリペプチドに拮抗して生じる抗体は、ポリペプチドまたはエピトープ担持フラグメント、アナログまたは細胞を、動物、好ましくはヒト以外の動物に、通常の実験法を用いて投与することにより得ることができる。モノクローナル抗体の産生には、連続的セルライン培養により得られる抗体を提供するいずれの方法も用いることができる。例えば、ハイブリドーマ法 (Kohler, G. およびMilstein, C., Nature 256: 495-497 (1975))、トリオーマ法、ヒトB-細胞ハイブリドーマ法 (Kozborら, Immunology Today 4: 72 (1983)) およびEBV-ハイブリドーマ法 (Coleら, MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY, 77-96頁, Alan R. Liss, Inc., (1985)) が挙げられる。

【0050】一本鎖抗体を産生するのに記載された技術（米国特許第4946778号）を適用して、本発明のポリペプチドに対する一本鎖抗体を産生できる。また、トランスジェニックマウスまたは他の哺乳動物を含め、他の生物を用いて、ヒト化抗体を発現させることができる。前記した抗体を用いて、ポリペプチドを発現するクローンを単離または同定してもよく、あるいはアフィニティークロマトグラフィーによりポリペプチドを精製してもよい。TR6のポリペプチドに対する抗体を用いて、とりわけ、慢性および急性炎症、関節炎、敗血症、自己免疫疾患（例えば、炎症性腸疾患、乾癬）、移植片拒絶反応、移植片対宿主疾患、感染、卒中、虚血症、急性呼吸疾患症候群、再狭窄、脳損傷、AIDS、骨疾患、癌（例えば、リンパ増殖性障害）、アテローム性動脈硬化症およびアルツハイマー病を治療してもよい。

#### 【0051】ワクチン

本発明の別の態様は、哺乳動物における免疫学的応答を誘起する方法であって、抗体および／またはT細胞免疫応答を生じさせるに十分なTR6のポリペプチドまたはそのフラグメントを哺乳動物に接種して、とりわけ、慢性および急性炎症、関節炎、敗血症、自己免疫疾患（例えば、炎症性腸疾患、乾癬）、移植片拒絶反応、移植片対宿主疾患、感染、卒中、虚血症、急性呼吸疾患症候群、再狭窄、脳損傷、AIDS、骨疾患、癌（例えば、リンパ増殖性障害）、アテローム性動脈硬化症およびアルツハイマー病から該動物を防御することからなる方法に関する。本発明のもう1つ別の態様は、哺乳動物にお

ける免疫学的応答を誘導する方法であって、TR6のポリペプチドをベクターを介してデリバリーし、かかる免疫学的応答を誘発させ、抗体を産生し、該動物を疾患から保護するように、インビボにてTR6のポリヌクレオチドの発現を指令することからなる方法に関する。

【0052】本発明のさらなる態様は免疫学的／ワクチン処方（組成物）であって、哺乳動物宿主中に導入された場合、その哺乳動物にてTR6のポリペプチドに対する免疫学的応答を誘導する処方（該組成物はTR6のポリペプチドまたはTR6遺伝子を含んでなる）に関する。ワクチン処方、さらに適当な担体を含んでもよい。TR6のポリペプチドは胃で分解されるかもしれないため、好ましくは非経口的（皮下、筋肉内、静脈内、皮内注射等を包含する）に投与する。非経口投与に適した処方、抗酸化剤、バッファー、静菌剤および処方を患者の血液と等張にする溶質を含有してもよい水性および非水性滅菌注射用溶液；ならびに懸濁剤または増粘剤を含んでもよい水性および非水性滅菌懸濁液を包含する。処方を1回投与または複数回投与用容器、例えば、密封アンプルおよびバイアルに入れて提供してもよく、使用直前に滅菌液体担体を添加するだけでよい凍結乾燥状態にて保存してもよい。またワクチン処方、水中油系および当該分野で知られた他の系などの処方の免疫原性を高めるためのアジュバント系を含んでもよい。用量は、ワクチンの個々の活性に依存しており、通常の実験により容易に決定することができる。

#### 【0053】スクリーニングアッセイ

本発明者らは、この度、配列番号5のTL2（別にTRAILとしても知られている、Immunity（6）：673-682（1995））がTR6のリガンドであることを見出した。かくして、本発明のTR6ポリペプチド、およびそのリガンドの1つである、TL2を、該レセプターまたはそのリガンドに結合し、本発明のポリペプチドのレセプターまたはそのリガンドTL2の活性を活性化（アゴニスト）するかまたは阻害（アンタゴニスト）する化合物をスクリーニングする方法に用いることができる。すなわち、本発明のポリペプチドを用いて、例えば、細胞、無細胞調製物、化学ライブラリーおよび天然物の混合物における小型分子基質およびリガンドの結合を評価してもよい。これらの基質およびリガンドは、天然の基質およびリガンドであってもよく、あるいは構造または機能を模倣したものであってもよい。Coliganら、Current Protocols in Immunology 1（2）：第5章（1991）を参照のこと。

【0054】TR6のポリペプチドは、種々の病原性を含め、多くの生物学的機能に関与している。したがって、一方でTR6を刺激する化合物および薬剤を、他方でTR6の機能を阻害するかまたはTR6を発現する細胞を除去しうる化合物または薬剤を見いだすことが望ましい。アンタゴニスト、またはTR6発現細胞を除去す

る薬剤は、慢性および急性炎症、関節炎、敗血症、自己免疫疾患（例えば、炎症性腸疾患、乾癬）、移植片拒絶反応、移植片対宿主疾患、感染、卒中、虚血症、成人呼吸窮迫症候群、再狭窄、脳損傷、AIDS、骨疾患、癌（例えば、リンパ増殖性障害）、アテローム性動脈硬化症およびアルツハイマー病などの症状の種々の治療および予防目的に用いることができる。アゴニストは、T細胞ならびに免疫系の他の要素、例えば、癌およびAIDSの治療のための要素の活性化にตอบสนองする症状の治療および予防目的に用いることができる。しかし、アゴニストはまた、慢性および急性炎症、関節炎、敗血症、自己免疫疾患（例えば、炎症性腸疾患、乾癬）、移植片拒絶反応、移植片対宿主疾患、感染、卒中、虚血症、急性呼吸疾患症候群、再狭窄、脳損傷、AIDS、骨疾患、癌（例えば、リンパ増殖性障害）、アテローム性動脈硬化症およびアルツハイマー病などの症状に治療的または予防的に用いると共に、T細胞および免疫活性の下方調整をもたらす免疫系の他の要素を不当に刺激するのに用いることもできる。

【0055】候補化合物は、無細胞または細胞をベースとするいずれかのアッセイにて、TL2のTR6への結合を阻害する化合物を検出する方法を用いて同定することができる。適当な無細胞アッセイは当業者であれば容易に決定することができる。例えば、精製したTR6またはTR6の細胞外ドメインを含有するTR6の精製した誘導体を、直接的または間接的（例えば、抗体を介してTR6に）のいずれかで適当な表面に固定し、精製したTL2のTR6への結合を遮断する能力により候補化合物を同定するELISAフォーマットを用いてもよい。適当な検出システムは、ストレプトアビジン・ホースラディッシュ・ペルオキシダーゼ接合体またはタグ、例えば、フルオレセインによる直接的接合法を用いる。逆に、精製されたTL2を適当な表面に固定し、精製されたTR6のTL2への結合を遮断するその能力により候補化合物を同定してもよい。TR6とTL2との結合は、直接的または間接的にTR6に結合した標識を用いることで検出することができる。TR6タンパク質およびそのリガンドを用いる多くの他のアッセイフォーマットも利用可能である。

【0056】適当な細胞をベースとするアッセイは、当業者であれば容易に決定できる。一般に、かかるスクリーニング操作は、本発明のレセプターのポリペプチドを細胞表面に発現する適当な細胞を作り出すことからなる。かかる細胞は、哺乳動物、酵母、DrosophilaまたはE.coli由来の細胞を包含する。ついで、レセプター（または発現したポリペプチドを有する細胞膜）を発現する細胞を、TL2などの既知リガンド、または試験化合物と接触させて結合または機能的応答の刺激もしくは阻害を観察する。該アッセイは、候補化合物に直接または間接的に結合した標識を用いて、あるいは標識競争物質、



例えば、リガンド T L 2 との競争を用いるアッセイにおいて、レセプターを有する細胞への付着を検出する、候補化合物の結合を簡単に試験することができる。さらには、候補化合物がレセプターまたはそのリガンドの活性化により発生するシグナルを生じるかどうかを、その表面にレセプターまたはそのリガンドおよびその融合タンパク質を有する細胞に適した検出系を用いて、これらのアッセイにより試験してもよい。典型的な融合パートナーは、レセプターまたはリガンドの細胞外ドメインが、別のレセプターの細胞内チロシンキナーゼドメインと融合するものである。活性化の阻害剤は、一般に、既知アゴニスト、例えば、リガンド T L 2 の存在下でアッセイされ、候補化合物が存在することによるアゴニストの活性化に対する作用を観察する。かかるスクリーニングアッセイを行うための標準操作は当該分野において周知である。

【0057】潜在的な T R 6 のアンタゴニストの例は、抗体、またはある場合には、T R 6 のリガンドに密接に

関連するオリゴヌクレオチドまたはタンパク質、例えば、リガンド T L 2 のフラグメント、またはレセプターの活性が妨げられるように、該レセプターまたはそのリガンドに結合するが、応答を惹起しない、小型分子を包含する。潜在的 T R 6 アゴニストの例として、T R 6、そのリガンド、例えば T L 2 に結合する抗体、またはその誘導体および T R 6 に結合する小型分子が挙げられる。これらのアゴニストは、本来のリガンドと接触することにより誘発される応答のすべてまたは一部を模倣する応答を惹起するであろう。

【0058】T L 2 のヌクレオチド配列（配列番号 5）（Immunex Research and Development Corporation, Seattle, Washington は、T N F-関連アポトーシス誘発リガンド（TNF-related apoptosis-inducing ligand; TRAIL）と、Twiley SR は、Immunity（6）：673-682（1995）にて公表）は以下のとおりである。

【0059】

【表 5】

```

1 CCTCACTGAC TATAAAGAA TAGAGAAGGA AGGGGCTTCAG TGACCGGCTG
51 CCTGGCTGAC TTACAGCAGT CAGACTCTGA CAGGATCATG GCTATGATGG
101 AGGTCCAGGG GGGACCCAGC CTGGGACAGA CCTGCGTGCT GATCGTGATC
151 TTCACAGTGC TCCTGCAGTC TCTCTGTGTG GCTGTAACCT ACGTGTACTT
201 TACCAACGAG CTGAAGCAGA TGCAGGACAA GTACTCCAAA AGTGGCATTG
251 CTTGTTTCTT AAAAGAAGAT GACAGTTATT GGGACCCCAA TGACGAAGAG
301 AGTATGAACA GCCCCTGCTG GCAAGTCAAG TGGCAACTCC GTCAGCTCGT
351 TAGAAAGATG ATTTTGAGAA CCTCTGAGGA AACCTTTTCT ACAGTTCAAG
401 AAAAGCAACA AAATATTTCT CCCCTAGTGA GAGAAAGAGG TCCTCAGAGA
451 GTAGCAGCTC ACATAACTGG GACCAGAGGA AGAAGCAACA CATTGTCTTC
501 TCCAAACTCC AAGAATGAAA AGGCTCTGGG CCGCAAAATA AACTCCTGGG
551 AATCATCAAG GAGTGGGCAT TCATTCCTGA GCAACTTGCA CTTGAGGAAT
601 GGTGAAGTGG TCATCCATGA AAAAGGGTTT TACTACATCT ATTCCCAAAAC
651 ATACTTTTGA TTTTCTGAGG AAATAAAGA AAACACAAAG AACGACAAAC
701 AAATGGTCCA ATATATTTAC AAATACACAA GTTATCCTGA CCCTATATTG
751 TTGATGAAAA GTGCTAGAAA TAGTTGTTGG TCTAAAGATG CAGAATATGG
801 ACTCTATTCC ATCTATCAAG GGGGAATATT TGAGCTTAAG GAAAATGACA
851 GAATTTTGTG TTCTGTAAAC AATGAGCACT TGATAGACAT GGACCATGAA
901 GCCAGTTTTT TCGGGGCCCT TTTAGTTGGC TAACTGACCT GGAAAGAAAA
951 AGCAATAACC TCAAAGTGAC TATTCAGTTT TCAGGATGAT AACTATGAA
1001 GATGTTTCAA AAAATCTGAC CAAAACAAAC AAACAGAAAA CAGAAACAA
1051 AAAACCTCT ATGCAATCTG AGTAGAGCAG CCACAACCAA AAAATTCTAC
1101 AACACACACT GTTCTGAAAG TGAAGCACTT ATCCCAAGAA AATGAAATTG
1151 CTGAAAGATC TTTCAGGACT CTACCTCATA TCAGTTTGCT AGCAGAAATC
1201 TAGAAGACTG TCAGCTTCCA AACATTAATG CAATGGTTAA CATCTTCTGT
1251 CTTTATAATC TACTCCTTGT AAAGACTGTA GAAGAAAGCG CAACAATCCA
1301 TCTCTCAAGT AGTGTATCAC AGTAGTAGCC TCCAGGTTTC CTTAAGGGAC
1351 AACATCCTTA AGTCAAAAGA GAGAAGAGGC ACCACTAAAA GATCGCAGTT
1401 TGCCTGGTGC AGTGGCTCAC ACCTGTAATC CCAACATTTT GGAACCCAA
1451 GGTGGGTAGA TCACGAGATC AAGAGATCAA GACCATAGTG ACCAACATAG
1501 TGAAACCCCA TCTCTACTGA AAGTGCAAAA ATTAGCTGGG TGTGTTGGCA
1551 CATGCCTGTA GTCCAGCTA CTTGAGAGGC TGAGGCAGGA GAATCGTTTG

```

1601 AACCCGGGAG GCAGAGGTTG CAGTGTGGTG AGATCATGCC ACTACACTCC  
 1651 AGCCTGGCGA CAGAGCGAGA CTTGGTTTCA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA  
 1701 CTTAGTAAG TACGTGTTAT TTTTTCAT AAAATTCTAT TACAGTATGT  
 1751 CAAAAAAAAA AAAAAAAAAA

【0060】TL2のアミノ酸配列（配列番号6）（Im  
 munex Research and Development Corporation、Seattl  
 e、Washingtonは、TNF-関連アポトーシス誘発リガ  
 ンド（TRAIL）と、Twiley SRら、Immunity（6）：67

3-682（1995）にて公表）は以下のとおりであ  
 る。

【0061】

【表6】

Met Ala Met Met Glu Val Gln Gly Gly Pro Ser Leu Gly Gln Thr Cys 16  
 Val Leu Ile Val Ile Phe Thr Val Leu Leu Gln Ser Leu Cys Val Ala 32  
 Val Thr Tyr Val Tyr Phe Thr Asn Glu Leu Lys Gln Met Gln Asp Lys 48  
 Tyr Ser Lys Ser Gly Ile Ala Cys Phe Leu Lys Glu Asp Asp Ser Tyr 64  
 Trp Asp Pro Asn Asp Glu Glu Ser Met Asn Ser Pro Cys Trp Gln Val 80  
 Lys Trp Gln Leu Arg Gln Leu Val Arg Lys Met Ile Leu Arg Thr Ser 96  
 Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro 112  
 Leu Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly 128  
 Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu 144  
 Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly 160  
 His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile 176  
 His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe 192  
 Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln 208  
 Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys 224  
 Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr 240  
 Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile 256  
 Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala 272  
 Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly End 281

【0062】予防および治療方法

本発明は、過剰および不十分な量の両方のTR6活性に  
 関連する、慢性および急性炎症、関節炎、敗血症、自己  
 免疫疾患（例えば、炎症性腸疾患、乾癬）、移植片拒絶  
 反応、移植片対宿主疾患、感染、卒中、虚血症、急性呼  
 吸疾患症候群、再狭窄、脳損傷、AIDS、骨疾患、癌  
 （例えば、リンパ増殖性障害）、アテローム性動脈硬化

症およびアルツハイマー病などの、異常な症状の治療方  
 法を提供する。

【0063】TR6活性が過剰な場合、いくつかの方法  
 を用いることができる。1の方法は、リガンドのTR6  
 との結合を遮断することにより、または別のシグナルを  
 阻害することにより活性化を阻害するのに効果的な量の  
 前記した阻害化合物（アンタゴニスト）を医薬上許容さ

れる担体と共に対象に投与し、そのことにより異常な症状を改善することからなる。もう1つ別の方法において、内在性TR6と競争してリガンドとの結合能を有する可溶性のTR6のポリペプチドを投与してもよい。かかる競争物質の典型例はTR6のポリペプチドのフラグメントからなる。

【0064】さらにもう1つ別の方法において、発現遮断法を用いて内在性TR6をコードする遺伝子の発現を阻害してもよい。公知のかかる方法は、内部生成した、あるいは別個に投与されたアンチセンス配列の使用からなる。例えば、Oligodeoxynucleotides as Antisense Inhibitors of Gene Expression, CRC Press, Boca Raton, FL (1988) 中、O'Connor, J. Neurochem 56: 560 (1991) を参照のこと。別法として、遺伝子と共に三重らせんを形成するオリゴヌクレオチドを供給することもできる。例えば、Leeら、Nucleic Acids Res 6: 3073 (1979); Cooneyら、Science 241: 456 (1988); Dervanら、Science 251: 1360 (1991) を参照のこと。これらのオリゴマーはそれ自体投与することができ、あるいは関連するオリゴマーをインビボで発現させることもできる。

【0065】TR6およびその活性の過少発現に関連する異常な症状を治療するのに、またいくつかの方法が利用可能である。1の方法は、TR6を活性化する治療上有効量の化合物（すなわち、前記のアゴニスト）を医薬上許容される担体とともに対象に投与し、そのことにより異常な状態を改善することからなる。別法として、遺伝子治療を用いて、対象中の関連細胞によるTR6の内因的生成を有効ならしめてもよい。例えば、前記のごとく、複製欠損レトロウイルスベクターにて発現するように、本発明のポリヌクレオチドを操作してもよい。ついで、該レトロウイルス発現構築物を単離し、本発明のポリペプチドをコードするRNA含有のレトロウイルスプラスミドベクターでトランスダクションしたパッケージング細胞中に導入して、パッケージング細胞が目的とする遺伝子を含む感染性ウイルス粒子を生成するようにしてもよい。これらのプロデューサー細胞を対象に投与して細胞をインビボで操作し、インビボでポリペプチドを発現するようにしてもよい。遺伝子治療の概説としては、Human Molecular Genetics, T. Strachan and A. P. Read, BIOS Scientific Publishers Ltd (1996) 中、第20章、Gene Therapy and other Molecular Genetic-based Therapeutic Approaches（およびその中の引用文献）を参照のこと。別法は、治療量のTR6のポリペプチドを適当な医薬担体と組み合わせて投与することである。

#### 【0066】処方および投与

可溶性のTR6のポリペプチドのごときペプチド、ならびにアゴニストおよびアンタゴニストペプチドまたは小分子を、適当な医薬担体と組み合わせて処方してもよ

い。かかる処方、治療上有効量のポリペプチドまたは化合物、および医薬上許容される担体または賦形剤を含んでなる。かかる担体としては、食塩水、緩衝食塩水、デキストロース、水、グリセロール、エタノール、およびその組み合わせを包含するが、これらに限定されない。処方は投与経路に適したものとすべきであり、当業者によく知られている。さらに本発明は、前記した本発明の組成物の1種またはそれ以上の成分を充填した、1個またはそれ以上の容器を含んでなる医薬パックおよびキットにも関する。

【0067】本発明のポリペプチドおよび他の化合物を単独で使用してもよく、あるいは治療化合物のごとき他の化合物と一緒に使用してもよい。医薬組成物の全身系投与の好ましい形態は、典型的には静脈注射による注射を包含する。皮下、筋肉内または腹腔内などの他の注射経路を用いることもできる。全身系投与のための別の手段は、胆汁酸塩またはフシジン酸などの浸透剤または他の界面活性剤を用いる経粘膜または経皮投与を包含する。加えて、腸溶処方またはカプセル処方にうまく処方されるならば、経口投与も可能である。これらの化合物の投与は、膏薬、パスタ、ゲル等の形態にて、局所的および/または局在化であってもよい。

【0068】必要な用量範囲は、ペプチドの選択、投与経路、処方の性質、対象の症状の性質、および顧問医の判断に依存する。しかしながら、適当な用量は対象1kg当たり0.1ないし100μgの範囲である。しかし、使用可能な種々の化合物および種々の投与経路の効力の違いを考慮すれば、必要な用量は広範囲なものと思われる。例えば、経口投与には静脈注射よりも多い用量が必要であると考えられる。当該分野においてよく知られた最適化のための標準的な経験的慣用操作を用いてこれらの用量の変更を行うことができる。しばしば「遺伝子治療」と称される前記した治療方法において、治療に用いられるポリペプチドを対象中において内在的に得ることもできる。よって、例えば、レトロウイルスプラスミドベクターを用いて対象由来の細胞をDNAまたはRNAなどのポリヌクレオチドで操作し、ポリペプチドをエクスピボでコードしてもよい。次いで、細胞を対象に導入する。

#### 【0069】

【実施例】以下の実施例は、特記する場合を除き、当業者に周知かつ慣用的な、標準方法を用いて行う。実施例は例示であって、本発明を限定するものではない。

#### 【0070】実施例1

ヒトTNFレセプターと配列類似性を有する2種類のEST (EST#1760054およびEST#1635744) を市販のESTデータベースで発見した。その2種のヌクレオチド配列（各々、3466bpおよび2641bp）を分析し、各々が、完全なcDNA配列の部分配列であり、ヌクレオチドレベルで2226bp

の、100%の同一性で重複することが明らかにされた。その2種の配列は共に、TR6と称されるTNFレセプター超科の新規なメンバーについての読み枠をコードする、3881bpの完全な推定cDNA配列に含まれる。その推定タンパク質は、疎水性の膜スパンニング領域を有する411個のアミノ酸の長さであり、少なくとも1種の形態のTR6が膜結合タンパク質として発現されることを示唆する。TR6タンパク質配列と、他のTNFレセプター科タンパク質を比較し、その配列が、この科の細胞外ドメインの特徴である2個のシステインに富む反復体および細胞内死ドメインを有することがわかった。

#### 【0071】TR6のノーザンブロット

種々の組織およびセルラインをノーザンブロットによりmRNA発現についてスクリーンした。Tri-Reagent (Molecular Research Center Inc., Cincinnati, OH) を用いて細胞およびセルラインよりRNAを調製し、変性アガロースゲル中に走らせ (Sambrookら, Molecular Cloning: a laboratory manual, 第2版, Cold Spring Harbor Lab Press, NY (1989))、90分間、25 mM NaOH中、真空ブロッティングを介して、ゼータブロープライロン膜 (Biorad, Hercules, CA) に移動させた。3M NaClを含有する1M トリス-HCl (pH7.5) で5ないし10分間中和した後、そのブロットを50%ホルムアミド、8%硫酸デキストラン、6xSSPE、0.1% SDSおよび100mg/mlの切断サケ精子DNAと、42°Cで少なくとも30分間プレハイブリダイズさせた。cDNAプローブをランダムプライミングにより32P-CTP (Statagene, La Jolla, CA) で標識化し、0.25M NaOHで簡単に変性させ、そのプレハイブリダイゼーション溶液に加えた。さらに42°Cで少なくとも24時間インキュベーションした後、ブロットを高いストリンジェントな条件で洗浄し、X-線フィルムに曝した。

【0072】TR6 RNAの極めて高い発現が大動脈内皮細胞にて検出された。高発現はまた単球でも検出された。低い発現が骨髄およびCD4+活性化OBLにて検出された。極めて低いが、検出可能なレベルでTR6 RNAが、CD19+PBL、CD8+PBL (活性化および非刺激の両方) および非刺激のCD4+PBLにて発現された。造血セルラインにて、低レベルのTR6 RNAが、HL60 (前骨髄球)、KG1a (前骨髄芽球) およびKG1 (骨髄芽球) セルラインにて発現された。極めて低いが、検出可能なレベルのTR6 RNAがU937 (単芽球) およびTHP-1 (単球) セ

ルラインにて発現された。大部分のRNA形態は3.8 kbの大きさであった。

#### 【0073】

##### 【配列表】

##### (1) 一般的情報

(i) 出願人: ディーン, キース・シーヤング, ピーター・アール

(ii) 発明の名称: 腫瘍壊死因子関連のレセプター、TR6

(iii) 配列の数: 6

(iv) 郵送先

(A) 名称: ラトナー&プレスティア

(B) 通り名: ビー・オー・ボックス 980

(C) 都市名: バレイ・フォージ

(D) 州名: PA

(E) 国名: USA

(F) 郵便番号: 19482

(v) コンピューター・リーダブル・フォーム:

(A) 媒体タイプ: ディスケット

(B) コンピューター: IBMコンパチブル

(C) オペレーティング・システム: DOS

(D) ソフトウェア: Windowsバージョン2.0用FastSEQ

(v) 現出願データ:

(A) 出願番号:

(B) 出願日: 1997年8月22日

(C) 分類番号: 不明

(vi) 先の出願データ:

(A) 出願番号: 08/853684

(B) 出願日: 1997年5月9日

(viii) 代理人情報:

(A) 名称: プレスティア, ポール・エフ

(B) 登録番号: 23031

(C) 代理人等における処理番号: GH50008-1

(ix) テレコミュニケーション情報:

(A) 電話番号: 610-407-0700

(B) ファックス番号: 610-407-0701

(C) テレックス番号: 846169

【0074】(2) 配列番号1に関する情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 3881塩基対

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖の数: 一本

(D) トポロジー: 線状

(ii) 分子の型: cDNA

(xi) 配列の記載: 配列番号1:

```

CTTTGCGCCC ACAAATACA CCGACGATGC CCGATCTACT TTAAGGGCTG AAACCCACGG    60
GCCTGAGAGA CTATAAGAGC GTTCCCTACC GCCATGGAAC AACGGGGACA GAACGCCCCG    120
GCGGCTTCGG GGGCCCGGAA AAGGCACGGC CCAGGACCCA GGGAGGCGCG GGGAGCCAGG    180
CTGGGGCCCC GGGTCCCCAA GACCCTTGTC CTCGTTGTCT CCGCGGTCCT GCTGTTGGTC    240

```

TCAGCTGAGT	CTGCTCTGAT	CACCCAACAA	GACCTAGCTC	CCCAGCAGAG	AGCGGCCCCA	300
CAACAAAAGA	GGTCCAGCCC	CTCAGAGGGA	TTGTGTCCAC	CTGGACACCA	TATCTCAGAA	360
GACGGTAGAG	ATTGCATCTC	CTGCAATAT	GGACAGGACT	ATAGCACTCA	ATGGAATGAC	420
CTCCTTTTCT	GCTTGCCTG	CACCAGGTGT	GATTCAGGTG	AAGTGGAGCT	AAGTCCCTGC	480
ACCACGACCA	GAAACACAGT	GTGTCACTGC	GAAGAAGGCA	CCTTCCGGGA	AGAAGATTCT	540
CCTGAGATGT	GCCGGAAGTG	CCGCACAGGG	TGTCCCAGAG	GGATGGTCAA	GGTCGGTGAT	600
TGTACACCCT	GGAGTGACAT	CGAATGTGTC	CACAAAGAAT	CAGGCATCAT	CATAGGAGTC	660
ACAGTTGCAG	CCGTAGTCTT	GATTGTGGCT	GTGTTTGTTC	GCAAGTCTTT	ACTGTGGAAG	720
AAAGTCCTTC	CTTACCTGAA	AGGCATCTGC	TCAGGTGGTG	GTGGGGACCC	TGAGCGTGTG	780
GACAGAAGCT	CACAACGACC	TGGGGCTGAG	GACAATGTCC	TCAATGAGAT	CGTGAGTATC	840
TTGCAGCCCA	CCCAGGTCCC	TGAGCAGGAA	ATGGAAGTCC	AGGAGCCAGC	AGAGCCAACA	900
GGTGTCAACA	TGTTGTCCCC	CGGGGAGTCA	GAGCATCTGC	TGGAACCGGC	AGAAGCTGAA	960
AGGTCTCAGA	GGAGGAGGCT	GCTGGTTCCA	GCAAATGAAG	GTGATCCAC	TGAGACTCTG	1020
AGACAGTGCT	TCGATGACTT	TGCAGACTTG	GTGCCCTTTG	ACTCCTGGGA	GCCGCTCATG	1080
AGGAAGTTGG	GCCTCATGGA	CAATGAGATA	AAGGTGGCTA	AAGCTGAGGC	AGCGGGCCAC	1140
AGGGACACCT	TGTACACGAT	GCTGATAAAG	TGGGTCAACA	AAACGGGGCG	AGATGCCTCT	1200
GTCCACACCC	TGCTGGATGC	CTTGGAGACG	CTGGGAGAGA	GACTTGCCAA	GCAGAAGATT	1260
GAGGACCACT	TGTTGAGCTC	TGGAAAGTTC	ATGTATCTAG	AAGGTAATGC	AGACTCTGCC	1320
ATGTCCCTAAG	TGTGATTCTC	TTGAGGAAGT	CAGACCTTCC	CTGGTTTACC	TTTTTCTGG	1380
AAAAAGCCCA	ACTGGACTCC	AGTCAGTAGG	AAAGTGCCAC	AATTGTCCAA	TGACCGGTAC	1440
TGGAAGAAAC	TCTCCCATCC	AACATCACCC	AGTGGATGGA	ACATCCTGTA	ACTTTTCACT	1500
GCACTTGGCA	TTATTTTAT	AAGCTGAATG	TGATAATAAG	GACACTATGG	AAATGTCTGG	1560
ATCATTCCGT	TTGTGCGTAC	TTTGAGATTT	GGTTTGGGAT	GTGATTGTTT	TCACAGCACT	1620
TTTTTATCCT	AATGTAAATG	CTTTATTTAT	TTATTTGGGC	TACATTGTAA	GATCCATCTA	1680
CACAGTCGTT	GTCCGACTTC	ACTTGATACT	ATATGATATG	AACCTTTTTT	GGGTGGGGGG	1740
TGCGGGGCG	TTCACTCTGT	CTCCAGGCT	GGAGTGCAAT	GGTGCAATCT	TGGCTCACTA	1800
TAGCCTTGAC	CTCTCAGGCT	CAAGCGATTG	TCCACCTCA	GCCATCCAAA	TAGCTGGGAC	1860
CACAGGTGTG	CAACCACAGC	CCCGGCTAAT	TTTTTGATT	TTGTCTAGAT	ATAGGGGCTC	1920
TCTATGTTGC	TCAGGGTGGT	CTCGAATTCC	TGGACTCAAG	CAGTCTGCCC	ACCTCAGACT	1980
CCCAAGCGG	TGGAATTAGA	GGCGTGAGCC	CCCATGCTTG	GCCTTACCTT	TCTACTTTTA	2040
TAATTCTGTA	TGTTATTATT	TTATGAACAT	GAAGAACTT	TAGTAAATGT	ACTTGTTTAC	2100
ATAGTTATGT	GAATAGATTA	GATAAACATA	AAAGGAGGAG	ACATACAATG	GGGGAAGAAG	2160
AAGAAGTCCC	CTGTAAGATG	TCAGTGTCTG	GGTTCCAGCC	CTCCCTCAGA	TGTACTTTGG	2220
CTTCAATGAT	TGGCAACTTC	TACAGGGGCC	AGTCTTTTGA	ACTGGACAAC	CTTACAAGTA	2280
TATGAGTATT	ATTTATAGGT	AGTTGTTTAC	ATATGAGTCG	GGACCAAAGA	GAAGTGGATC	2340
CACGTGAAGT	CCTGTGTGTG	GCTGGTCCCT	ACCTGGGCAG	TCTCATTTGC	ACCCATAGCC	2400
CCCATCTATG	GACAGGCTGG	GACAGAGGCA	GATGGGTTAG	ATCACACATA	ACAATAGGGT	2460
CTATGTCATA	TCCCAAGTGA	ACTTGAGCCC	TGTTTGGGCT	CAGGAGATAG	AAGACAAAAT	2520
CTGTCTCCCC	ACGTCTGCCA	TGGCATCAAG	GGGGAAGAGT	AGATGGTGCT	TGAGAATGGT	2580
GTGAAATGGT	TGCCATCTCA	GGAGTAGATG	GCCCGGCTCA	CTTCTGGTTA	TCTGTACCCC	2640
TGAGCCCATG	AGCTGCCTTT	TAGGGTACAG	ATTGCCTACT	TGAGGACCTT	GGCCGCTCTG	2700
TAAGCATCTG	ACTCATCTCA	GAAATGTCAA	TTCTTAAACA	CTGTGGCAAC	AGGACCTAGA	2760
ATGGCTGACG	CATTAAGGTT	TTCTTCTTGT	GTCTGTCTCT	ATTATTGTTT	TAAGACCTCA	2820
GTAACCATTT	CAGCCTCTTT	CCAGCAAACC	CTTCTCCATA	GTATTTCACT	CATGGAAGGA	2880
TCATTTATGC	AGGTAGTCAT	TCCAGGAGTT	TTTGGTCTTT	TCTGTCTCAA	GGCATTGTGT	2940
GTTTTGTTCC	GGGACTGGTT	TGGGTGGGAC	AAAGTTAGAA	TTGCCTGAAG	ATCACACATT	3000
CAGACTGTTG	TGTCTGTGGA	GTTTTAGGAG	TGGGGGGTGA	CCTTTCTGGT	CTTTGCACTT	3060
CCATCCTCTC	CCACTTCCAT	CTGGCATCCC	CACGCGTTGT	CCCCTGCACT	TCTGGAAGGC	3120
ACAGGGTGCT	GCTGCTTCCT	GGTCTTTGCC	TTTGCTGGGC	CTTCTGTGCA	GGACGCTCAG	3180
CCTCAGGGCT	CAGAAGGTGC	CAGTCCGGTC	CCAGGTCCTT	TGTCCTTCC	ACAGAGGCCT	3240

TCCTAGAAGA TGCATCTAGA GTGTCAGCCT TATCAGTGTT TAAGATTTTT CTTTTATTTT 3300  
 TAATTTTTTT GAGACAGAAT CTCACTCTCT CGCCCAGGCT GGAGTGCAAC GGTACGATCT 3360  
 TGGCTCAGTG CAACCTCCGC CTCCTGGGTT CAAGCGATTG TCGTGCCTCA GCCTCCGGAG 3420  
 TAGCTGGGAT TGCAGGCACC CGCCACCACG CCTGGCTAAT TTTTGTATTT TTAGTAGAGA 3480  
 CGGGGTTTCA CCATGTTGGT CAGGCTGGTC TCGAACTCCT GACCTCAGGT GATCCACNTT 3540  
 GGCTCCGAA AGTGCTGGGA TATACAAGGC GTGAGCCACC AGCCAGGCCA AGATATTNTT 3600  
 NTAAAGNNAG CTTCCGGANG ACATGAAATA ANGGGGGTTT TTGTTGTTTA GTAACATTNG 3660  
 GCTTTGATAT ATCCCCAGGC CAAATNGCAN GNGACACAGG ACAGCCATAG TATAGTGTGT 3720  
 CACTCGTGGT TGGTGTCTCT TCATGGTCTT GCCCTGTCAA AGGTCCCTAT TTGAAATGTG 3780  
 TTATAATACA AACAAGGAAG CACATTGTGT ACAAATACT TATGTATTTA TGAATCCATG 3840  
 ACCAAATTA ATATGAAACC TTATATAAAA AAAAAAAAAA A 3881

【0075】(2) 配列番号2に関する情報:

(C) 鎖の数: 一本

(i) 配列の特徴:

(D) トポロジー: 線状

(A) 配列の長さ: 411 アミノ酸

(ii) 分子の型: タンパク質

(B) 配列の型: アミノ酸

(xi) 配列の記載: 配列番号2:

Met Glu Gln Arg Gly Gln Asn Ala Pro Ala Ala Ser Gly Ala Arg Lys  
 1 5 10 15  
 Arg His Gly Pro Gly Pro Arg Glu Ala Arg Gly Ala Arg Pro Gly Pro  
 20 25 30  
 Arg Val Pro Lys Thr Leu Val Leu Val Val Ala Ala Val Leu Leu Leu  
 35 40 45  
 Val Ser Ala Glu Ser Ala Leu Ile Thr Gln Gln Asp Leu Ala Pro Gln  
 50 55 60  
 Gln Arg Ala Ala Pro Gln Gln Lys Arg Ser Ser Pro Ser Glu Gly Leu  
 65 70 75 80  
 Cys Pro Pro Gly His His Ile Ser Glu Asp Gly Arg Asp Cys Ile Ser  
 85 90 95  
 Cys Lys Tyr Gly Gln Asp Tyr Ser Thr Gln Trp Asn Asp Leu Leu Phe  
 100 105 110  
 Cys Leu Arg Cys Thr Arg Cys Asp Ser Gly Glu Val Glu Leu Ser Pro  
 115 120 125  
 Cys Thr Thr Thr Arg Asn Thr Val Cys Gln Cys Glu Glu Gly Thr Phe  
 130 135 140  
 Arg Glu Glu Asp Ser Pro Glu Met Cys Arg Lys Cys Arg Thr Gly Cys  
 145 150 155 160  
 Pro Arg Gly Met Val Lys Val Gly Asp Cys Thr Pro Trp Ser Asp Ile  
 165 170 175  
 Glu Cys Val His Lys Glu Ser Gly Ile Ile Ile Gly Val Thr Val Ala  
 180 185 190  
 Ala Val Val Leu Ile Val Ala Val Phe Val Cys Lys Ser Leu Leu Trp  
 195 200 205  
 Lys Lys Val Leu Pro Tyr Leu Lys Gly Ile Cys Ser Gly Gly Gly Gly  
 210 215 220  
 Asp Pro Glu Arg Val Asp Arg Ser Ser Gln Arg Pro Gly Ala Glu Asp  
 225 230 235 240  
 Asn Val Leu Asn Glu Ile Val Ser Ile Leu Gln Pro Thr Gln Val Pro  
 245 250 255  
 Glu Gln Glu Met Glu Val Gln Glu Pro Ala Glu Pro Thr Gly Val Asn  
 260 265 270

Met Leu Ser Pro Gly Glu Ser Glu His Leu Leu Glu Pro Ala Glu Ala  
 275 280 285  
 Glu Arg Ser Gln Arg Arg Arg Leu Leu Val Pro Ala Asn Glu Gly Asp  
 290 295 300  
 Pro Thr Glu Thr Leu Arg Gln Cys Phe Asp Asp Phe Ala Asp Leu Val  
 305 310 315 320  
 Pro Phe Asp Ser Trp Glu Pro Leu Met Arg Lys Leu Gly Leu Met Asp  
 325 330 335  
 Asn Glu Ile Lys Val Ala Lys Ala Glu Ala Ala Gly His Arg Asp Thr  
 340 345 350  
 Leu Tyr Thr Met Leu Ile Lys Trp Val Asn Lys Thr Gly Arg Asp Ala  
 355 360 365  
 Ser Val His Thr Leu Leu Asp Ala Leu Glu Thr Leu Gly Glu Arg Leu  
 370 375 380  
 Ala Lys Gln Lys Ile Glu Asp His Leu Leu Ser Ser Gly Lys Phe Met  
 385 390 395 400  
 Tyr Leu Glu Gly Asn Ala Asp Ser Ala Met Ser End  
 405 410 411

【0076】(2) 配列番号3に関する情報:

(C) 鎖の数: 一本

(i) 配列の特徴:

(D) トポロジー: 線状

(A) 配列の長さ: 1062塩基対

(ii) 分子の型: cDNA

(B) 配列の型: 核酸

(xi) 配列の記載: 配列番号3:

ATGACCTCCT TTTCTGCTTG CGCTGCACCA GGTGTGATTC AGGTGAAGTG GAGCTAAGTC 60  
 CCTGCACCAC GACCAGAAAC ACAGTGTGTC AGTGCGAAGA AGGCACCTTC CGGAAGAAG 120  
 ATTCTCCTGA GATGTGCCGG AAGTGCCGCA CAGGGTGTCC CAGAGGGATG GTCAAGGTCG 180  
 GTGATTGTAC ACCCTGGAGT GACATCGAAT GTGTCCACAA AGAATCAGGC ATCATCATAG 240  
 GAGTCACAGT TGCAGCCGTA GTCTTGATTG TGGCTGTGTT TGTTCGAAG TCTTTACTGT 300  
 GGAAGAAAGT CCTTCCTTAC CTGAAAGGCA TCTGCTCAGG TGGTGGTGGG GACCCTGAGC 360  
 GTGTGGACAG AAGCTCACAA CGACCTGGGG CTGAGGACAA TGTCTCAAT GAGATCGTGA 420  
 GTATCTTGCA GCCCAGCCAG GTCCCTGAGC AGGAAATGGA AGTCCAGGAG CCAGCAGAGC 480  
 CAACAGGTGT CAACATGTTG TCCCCCGGGG AGTCAGAGCA TCTGCTGGAA CCGGCAGAAG 540  
 CTGAAAGGTC TCAGAGGAGG AGGCTGCTGG TTCCAGCAAA TGAAGGTGAT CCCACTGAGA 600  
 CTCTGAGACA GTGCTTCGAT GACTTTGCAG ACTTGGTGCC CTTTGACTCC TGGGAGCCGC 660  
 TCATGAGGAA GTTGGGCCTC ATGGACAATG AGATAAAGGT GGCTAAAGCT GAGGCAGCGG 720  
 GCCACAGGGA CACCTGTGAC ACGATGCTGA TAAAGTGGGT CAACAAAACC GGGCGAGATG 780  
 CCTCTGTCCA CACCCTGCTG GATGCCTTGG AGACGCTGGG AGAGAGACTT GCCAAGCAGA 840  
 AGATTGAGGA CCACTTGTG AGCTCTGGAA AGTTCATGTA TCTAGAAGGT AATGCAGACT 900  
 CTGCCATGTC CTAAGTGTGA TTCTCTTCAG GAAGTCAGAC CTTCCCTGGT TTACCTTTTT 960  
 TCTGGAAAAA GCCCACTGG ACTCCAGTCA GTAGGAAAGT GCCACAATTG TCACATGACC 1020  
 GGTACTGGAA GAAACTCTCC CATCCAACAT CACCCAGTGG AT 1062

【0077】(2) 配列番号4に関する情報:

(C) 鎖の数: 一本

(i) 配列の特徴:

(D) トポロジー: 線状

(A) 配列の長さ: 303アミノ酸

(ii) 分子の型: タンパク質

(B) 配列の型: アミノ酸

(xi) 配列の記載: 配列番号4:

Asp Leu Leu Phe Cys Leu Arg Cys Thr Arg Cys Asp Ser Gly Glu Val  
 1 5 10 15  
 Glu Leu Ser Pro Cys Thr Thr Thr Arg Asn Thr Val Cys Gln Cys Glu  
 20 25 30

Glu Gly Thr Phe Arg Glu Glu Asp Ser Pro Glu Met Cys Arg Lys Cys  
 35 40 45  
 Arg Thr Gly Cys Pro Arg Gly Met Val Lys Val Gly Asp Cys Thr Pro  
 50 55 60  
 Trp Ser Asp Ile Glu Cys Val His Lys Glu Ser Gly Ile Ile Ile Gly  
 65 70 75 80  
 Val Thr Val Ala Ala Val Val Leu Ile Val Ala Val Phe Val Cys Lys  
 85 90 95  
 Ser Leu Leu Trp Lys Lys Val Leu Pro Tyr Leu Lys Gly Ile Cys Ser  
 100 105 110  
 Gly Gly Gly Gly Asp Pro Glu Arg Val Asp Arg Ser Ser Gln Arg Pro  
 115 120 125  
 Gly Ala Glu Asp Asn Val Leu Asn Glu Ile Val Ser Ile Leu Gln Pro  
 130 135 140  
 Thr Gln Val Pro Glu Gln Glu Met Glu Val Gln Glu Pro Ala Glu Pro  
 145 150 155 160  
 Thr Gly Val Asn Met Leu Ser Pro Gly Glu Ser Glu His Leu Leu Glu  
 165 170 175  
 Pro Ala Glu Ala Glu Arg Ser Gln Arg Arg Arg Leu Leu Val Pro Ala  
 180 185 190  
 Asn Glu Gly Asp Pro Thr Glu Thr Leu Arg Gln Cys Phe Asp Asp Phe  
 195 200 205  
 Ala Asp Leu Val Pro Phe Asp Ser Trp Glu Pro Leu Met Arg Lys Leu  
 210 215 220  
 Gly Leu Met Asp Asn Glu Ile Lys Val Ala Lys Ala Glu Ala Ala Gly  
 225 230 235 240  
 His Arg Asp Thr Leu Tyr Thr Met Leu Ile Lys Trp Val Asn Lys Thr  
 245 250 255  
 Gly Arg Asp Ala Ser Val His Thr Leu Leu Asp Ala Leu Glu Thr Leu  
 260 265 270  
 Gly Glu Arg Leu Ala Lys Gln Lys Ile Glu Asp His Leu Leu Ser Ser  
 275 280 285  
 Gly Lys Phe Met Tyr Leu Glu Gly Asn Ala Asp Ser Ala Met Ser  
 290 295 300

【0078】(2) 配列番号5に関する情報:

(C) 鎖の数: 一本

(i) 配列の特徴:

(D) トポロジー: 線状

(A) 配列の長さ: 1769塩基対

(ii) 分子の型: cDNA

(B) 配列の型: 核酸

(xi) 配列の記載: 配列番号5:

CCTCACTGAC TATAAAAGAA TAGAGAAGGA AGGGCTTCAG TGACCGGCTG CCTGGCTGAC 60  
 TTACAGCAGT CAGACTCTGA CAGGATCATG GCTATGATGG AGGTCCAGGG GGGACCCAGC 120  
 CTGGGACAGA CCTGCGTGCT GATCGTGATC TTCACAGTGC TCCTGCAGTC TCTCTGTGTG 180  
 GCTGTAACTT ACGTGTACTT TACCAACGAG CTGAAGCAGA TGCAGGACAA GTACTCCAAA 240  
 AGTGGCATTG CTTGTTTCTT AAAAGAAGAT GACAGTTATT GGGACCCCAA TGACGAAGAG 300  
 AGTATGAACA GCCCCTGCTG GCAAGTCAAG TGGCAACTCC GTCAGCTCGT TAGAAAGATG 360  
 ATTTTGAGAA CCTCTGAGGA AACCATTCTT ACAGTTCAAG AAAAGCAACA AAATATTTCT 420  
 CCCCTAGTGA GAGAAAGAGG TCCTCAGAGA GTAGCAGCTC ACATAACTGG GACCAGAGGA 480  
 AGAAGCAACA CATTGTCTTC TCCAACTCC AAGAATGAAA AGGCTCTGGG CCGCAAAATA 540  
 AACTCCTGGG AATCATCAAG GAGTGGGCAT TCATTCTGTA GCAACTTGCA CTTGAGGAAT 600  
 GGTGAAGTGG TCATCCATGA AAAAGGGTTT TACTACATCT ATTCCCAAAC ATACTTTCGA 660



```

TTTCAGGAGG AAATAAAGA AAACACAAAG AACGACAAAC AAATGGTCCA ATATATTTAC 720
AAATACACAA GTTATCCTGA CCCTATATTG TTGATGAAAA GTGCTAGAAA TAGTTGTTGG 780
TCTAAAGATG CAGAAATATG ACTCTATTCC ATCTATCAAG GGGGAATATT TGAGCTTAAG 840
GAAAATGACA GAATTTTTGT TTCTGTAACA AATGAGCACT TGATAGACAT GGACCATGAA 900
GCCAGTTTTT TCGGGGCCTT TTTAGTTGGC TAACTGACCT GGAAAGAAAA AGCAATAACC 960
TCAAAGTGAC TATTCAGTTT TCAGGATGAT ACACTATGAA GATGTTTCAA AAAATCTGAC 1020
CAAAACAAAC AAACAGAAAA CAGAAAACAA AAAAACCTCT ATGCAATCTG AGTAGAGCAG 1080
CCACAACCAA AAAATTCTAC AACACACACT GTTCTGAAAG TGAAGTCACTT ATCCCAAGAA 1140
AATGAAATTG CTGAAAGATC TTTCAGGACT CTACCTCATA TCAGTTTGCT AGCAGAAATC 1200
TAGAAGACTG TCAGCTTCCA AACATTAATG CAATGGTTAA CATCTTCTGT CTTTATAATC 1260
TACTCCTTGT AAAGACTGTA GAAGAAAGCG CAACAATCCA TCTCTCAAGT AGTGTATCAC 1320
AGTAGTAGCC TCCAGGTTTC CTTAAGGGAC AACATCCTTA AGTCAAAAGA GAGAAGAGGC 1380
ACCACTAAAA GATCGCAGTT TGCCTGGTGC AGTGGCTCAC ACCTGTAATC CCAACATTTT 1440
GGGAACCCAA GGTGGGTAGA TCACGAGATC AAGAGATCAA GACCATAGTG ACCAACATAG 1500
TGAAACCCCA TCTCTACTGA AAGTGCAAAA ATTAGCTGGG TGTGTTGGCA CATGCCTGTA 1560
GTCCAGCTA CTTGAGAGGC TGAGGCAGGA GAATCGTTTG AACCCGGGAG GCAGAGGTTG 1620
CAGTGTGGTG AGATCATGCC ACTACACTCC AGCCTGGCGA CAGAGCGAGA CTTGGTTTCA 1680
AAAAAAAAA AAAAAAAAAA CTTAGTAAG TACGTGTTAT TTTTTCAT AAATTTCTAT 1740
TACAGTATGT CAAAAAAAAA AAAAAAAAAA 1769

```

【0079】(2) 配列番号6に関する情報:

(C) 鎖の数: 一本

(i) 配列の特徴:

(D) トポロジー: 線状

(A) 配列の長さ: 281アミノ酸

(ii) 分子の型: タンパク質

(B) 配列の型: アミノ酸

(xi) 配列の記載: 配列番号6:

Met	Ala	Met	Met	Glu	Val	Gln	Gly	Gly	
Pro	Ser	Leu	Gly	Gln	Thr	Cys			
1				5					
10					15				
Val	Leu	Ile	Val	Ile	Phe	Thr	Val	Leu	
Leu	Gln	Ser	Leu	Cys	Val	Ala			
			20					25	
				30					
Val	Thr	Tyr	Val	Tyr	Phe	Thr	Asn	Glu	
Leu	Lys	Gln	Met	Gln	Asp	Lys			
		35					40		
			45						
Tyr	Ser	Lys	Ser	Gly	Ile	Ala	Cys	Phe	
Leu	Lys	Glu	Asp	Asp	Ser	Tyr			
		50				55			
			60						
Trp	Asp	Pro	Asn	Asp	Glu	Glu	Ser	Met	
Asn	Ser	Pro	Cys	Trp	Gln	Val			
65					70				
	75					80			
Lys	Trp	Gln	Leu	Arg	Gln	Leu	Val	Arg	
Lys	Met	Ile	Leu	Arg	Thr	Ser			
				85					
90					95				
Glu	Glu	Thr	Ile	Ser	Thr	Val	Gln	Glu	
Lys	Gln	Gln	Asn	Ile	Ser	Pro			

			100				105		
			110						
Leu	Val	Arg	Glu	Arg	Gly	Pro	Gln	Arg	
Val	Ala	Ala	His	Ile	Thr	Gly			
		115				120			
			125						
Thr	Arg	Gly	Arg	Ser	Asn	Thr	Leu	Ser	
Ser	Pro	Asn	Ser	Lys	Asn	Glu			
		130				135			
			140						
Lys	Ala	Leu	Gly	Arg	Lys	Ile	Asn	Ser	
Trp	Glu	Ser	Ser	Arg	Ser	Gly			
		145				150			
			155				160		
His	Ser	Phe	Leu	Ser	Asn	Leu	His	Leu	
Arg	Asn	Gly	Glu	Leu	Val	Ile			
			165						
170							175		
His	Glu	Lys	Gly	Phe	Tyr	Tyr	Ile	Tyr	
Ser	Gln	Thr	Tyr	Phe	Arg	Phe			
			180				185		
			190						
Gln	Glu	Glu	Ile	Lys	Glu	Asn	Thr	Lys	
Asn	Asp	Lys	Gln	Met	Val	Gln			
		195				200			
			205						
Tyr	Ile	Tyr	Lys	Tyr	Thr	Ser	Tyr	Pro	
Asp	Pro	Ile	Leu	Leu	Met	Lys			
		210				215			
			220						
Ser	Ala	Arg	Asn	Ser	Cys	Trp	Ser	Lys	
Asp	Ala	Glu	Tyr	Gly	Leu	Tyr			
		225				230			
			235				240		
Ser	Ile	Tyr	Gln	Gly	Gly	Ile	Phe	Glu	
Leu	Lys	Glu	Asn	Asp	Arg	Ile			
			245						
250							255		
Phe	Val	Ser	Val	Thr	Asn	Glu	His	Leu	
Ile	Asp	Met	Asp	His	Glu	Ala			
			260				265		
			270						
Ser	Phe	Phe	Gly	Ala	Phe	Leu	Val	Gly	
		275				280			

## フロントページの続き

(51) Int. Cl. 6

識別記号

F I

A 6 1 K 39/395  
48/00A B E  
A E DC 1 2 P 21/02  
21/08

C

C 0 7 K 14/705  
16/28

A 6 1 K 37/02

A B B

C 1 2 N 5/10

A B J

C 1 2 P 21/02  
21/08

A D U

A D X

C 1 2 N 5/00

A

(72) 発明者 ピーター・ロナルド・ヤング  
アメリカ合衆国08648ニュージャージー州  
ローレンスビル、ヘンドリクソン・ロード  
32番